

WEST[Help](#)[Logout](#)[Interrupt](#)[Main Menu](#)[Search Form](#)[Posting Counts](#)[Show S Numbers](#)[Edit S Numbers](#)[Preferences](#)[Cases](#)**Search Results -**

Terms	Documents
plant and amino adj acid adj transporter	19

Database: US Patents Full-Text Database ▲
US Pre-Grant Publication Full-Text Database
JPO Abstracts Database
EPO Abstracts Database
Derwent World Patents Index
IBM Technical Disclosure Bulletins ▼

Search:

L3

[Refine Search](#)[Recall Text](#)[Clear](#)**Search History****DATE:** Wednesday, November 13, 2002 [Printable Copy](#) [Create Case](#)**Set Name Query**

side by side

Hit Count Set Name

result set

*DB=USPT,DWPI; PLUR=YES; OP=OR*L3 plant and amino adj acid adj transporter 19 L3L2 plant and amino adj acid adj transporter 19 L2*DB=DWPI; PLUR=YES; OP=OR*L1 9401559 11 L1

END OF SEARCH HISTORY

Connecting via Winsock to STN

Welcome to STN International! Enter x:x

LOGINID:SSSPTA1600RKK

PASSWORD:

TERMINAL (ENTER 1, 2, 3, OR ?):2

* * * * * Welcome to STN International * * * * *

NEWS	1	Web Page URLs for STN Seminar Schedule - N. America
NEWS	2 Apr 08	"Ask CAS" for self-help around the clock
NEWS	3 Apr 09	BEILSTEIN: Reload and Implementation of a New Subject Area
NEWS	4 Apr 09	ZDB will be removed from STN
NEWS	5 Apr 19	US Patent Applications available in IFICDB, IFIPAT, and IFIUIDB
NEWS	6 Apr 22	Records from IP.com available in CAPLUS, HCAPLUS, and ZCAPLUS
NEWS	7 Apr 22	BIOSIS Gene Names now available in TOXCENTER
NEWS	8 Apr 22	Federal Research in Progress (FEDRIP) now available
NEWS	9 Jun 03	New e-mail delivery for search results now available
NEWS	10 Jun 10	MEDLINE Reload
NEWS	11 Jun 10	PCTFULL has been reloaded
NEWS	12 Jul 02	FOREGE no longer contains STANDARDS file segment
NEWS	13 Jul 22	USAN to be reloaded July 28, 2002; saved answer sets no longer valid
NEWS	14 Jul 29	Enhanced polymer searching in REGISTRY
NEWS	15 Jul 30	NETFIRST to be removed from STN
NEWS	16 Aug 08	CANCERLIT reload
NEWS	17 Aug 08	PHARMAMarketLetter(PHARMAML) - new on STN
NEWS	18 Aug 08	NTIS has been reloaded and enhanced
NEWS	19 Aug 19	Aquatic Toxicity Information Retrieval (AQUIRE) now available on STN
NEWS	20 Aug 19	IFIPAT, IFICDB, and IFIUIDB have been reloaded
NEWS	21 Aug 19	The MEDLINE file segment of TOXCENTER has been reloaded
NEWS	22 Aug 26	Sequence searching in REGISTRY enhanced
NEWS	23 Sep 03	JAPIO has been reloaded and enhanced
NEWS	24 Sep 16	Experimental properties added to the REGISTRY file
NEWS	25 Sep 16	Indexing added to some pre-1967 records in CA/CAPLUS
NEWS	26 Sep 16	CA Section Thesaurus available in CAPLUS and CA
NEWS	27 Oct 01	CASREACT Enriched with Reactions from 1907 to 1985
NEWS	28 Oct 21	EVENTLINE has been reloaded
NEWS	29 Oct 24	BEILSTEIN adds new search fields
NEWS	30 Oct 24	Nutraceuticals International (NUTRACEUT) now available on STN
NEWS	31 Oct 25	MEDLINE SDI run of October 8, 2002
NEWS EXPRESS	October 14 CURRENT WINDOWS VERSION IS V6.01, CURRENT MACINTOSH VERSION IS V6.0a(ENG) AND V6.0Ja(JP), AND CURRENT DISCOVER FILE IS DATED 01 OCTOBER 2002	
NEWS HOURS	STN Operating Hours Plus Help Desk Availability	
NEWS INTER	General Internet Information	
NEWS LOGIN	Welcome Banner and News Items	
NEWS PHONE	Direct Dial and Telecommunication Network Access to STN	
NEWS WWW	CAS World Wide Web Site (general information)	

Enter NEWS followed by the item number or name to see news on that specific topic.

All use of STN is subject to the provisions of the STN Customer agreement. Please note that this agreement limits use to scientific research. Use for software development or design or implementation

of commercial gateways or other similar uses is prohibited and may result in loss of user privileges and other penalties.

***** STN Columbus *****

FILE 'HOME' ENTERED AT 10:29:44 ON 13 NOV 2002

=> file agricola biosis embase caplus
COST IN U.S. DOLLARS

SINCE FILE	TOTAL
ENTRY	SESSION
0.21	0.21

FULL ESTIMATED COST

FILE 'AGRICOLA' ENTERED AT 10:29:54 ON 13 NOV 2002

FILE 'BIOSIS' ENTERED AT 10:29:54 ON 13 NOV 2002
COPYRIGHT (C) 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.(R)

FILE 'EMBASE' ENTERED AT 10:29:54 ON 13 NOV 2002
COPYRIGHT (C) 2002 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

FILE 'CAPLUS' ENTERED AT 10:29:54 ON 13 NOV 2002
USE IS SUBJECT TO THE TERMS OF YOUR STN CUSTOMER AGREEMENT.
PLEASE SEE "HELP USAGETERMS" FOR DETAILS.
COPYRIGHT (C) 2002 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS)

=> s amino(w)acid(w)transporters and plant
L1 95 AMINO(W) ACID(W) TRANSPORTERS AND PLANT

=> s amino(w)acid(w)transporter? and plant
L2 169 AMINO(W) ACID(W) TRANSPORTER? AND PLANT

=> duplicate remove l2
DUPLICATE PREFERENCE IS 'AGRICOLA, BIOSIS, EMBASE, CAPLUS'
KEEP DUPLICATES FROM MORE THAN ONE FILE? Y/(N):n
PROCESSING COMPLETED FOR L2
L3 100 DUPLICATE REMOVE L2 (69 DUPLICATES REMOVED)

=> s l3 and clone?
L4 16 L3 AND CLONE?

=> d l4 1-16 ti

L4 ANSWER 1 OF 16 AGRICOLA
TI Cloning and characterization of a potassium-coupled **amino acid transporter**.

L4 ANSWER 2 OF 16 AGRICOLA
TI Molecular analysis of **plant** sugar and **amino acid transporters**.

L4 ANSWER 3 OF 16 AGRICOLA
TI Salt stress-induced proline transporters and salt stress-repressed broad specificity amino acid permeases identified by suppression of a yeast amino acid permease-targeting mutant.

L4 ANSWER 4 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
TI **Amino acid transporters** are localized to transfer cells of developing pea seeds.

L4 ANSWER 5 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
TI Effects of beta-ODAP, the Lathyrus sativus neurotoxin, and related natural

compounds on **cloned** glutamate receptors and transporters expressed in *Xenopus* oocytes.

- L4 ANSWER 6 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
TI Analyses of expressed sequence tags of anther and anther-specific cDNA **clones** in *Nicotiana tabacum*.
- L4 ANSWER 7 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
TI Regulation of sugar, amino acid and peptide **plant** membrane transporters.
- L4 ANSWER 8 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
TI Expression cloning of a mammalian **amino acid transporter** or modifier by complementation of a yeast transport mutant.
- L4 ANSWER 9 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
TI Identification and characterization of the thiamine transporter gene of *Saccharomyces cerevisiae*.
- L4 ANSWER 10 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
TI Proline transport is restored in a yeast amino acid defective mutant by a G-actin like protein with an extended C-terminal.
- L4 ANSWER 11 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
TI A putative **amino acid transporter** is specifically expressed in haustoria of the rust fungus *Uromyces fabae*.
- L4 ANSWER 12 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
TI The study of methionine uptake in *Saccharomyces cerevisiae* reveals a new family of amino acid permeases.
- L4 ANSWER 13 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
TI Kinetics and specificity of a H⁺/**amino acid transporter** from *Arabidopsis thaliana*.
- L4 ANSWER 14 OF 16 CAPLUS COPYRIGHT 2002 ACS
TI Isolation of a promoter that directs microsporogenesis-associated gene expression in *Lilium longiflorum*
- L4 ANSWER 15 OF 16 CAPLUS COPYRIGHT 2002 ACS
TI Sequence and analysis of chromosome 4 of the plant *Arabidopsis thaliana*
- L4 ANSWER 16 OF 16 CAPLUS COPYRIGHT 2002 ACS
TI A cDNA for a **plant amino acid transporter** and its expression in yeasts and **plants**

=> d 14 1-5

- L4 ANSWER 1 OF 16 AGRICOLA
AN 1999:2636 AGRICOLA
DN IND21812299
TI Cloning and characterization of a potassium-coupled **amino acid transporter**.
AU Castagna, M.; Shayakul, C.; Trotti, D.; Sacchi, V.F.; Harvey, W.R.; Hediger, M.A.
CS Brigham and Women's Hospital, Boston, MA.
AV DNAL (500 N21P)
SO Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Apr 28, 1998. Vol. 95, No. 9. p. 5395-5400
Publisher: Washington, D.C. : National Academy of Sciences,
CODEN: PNASA6; ISSN: 0027-8424
NTE Includes references

CY District of Columbia; United States
 DT Article; Conference
 FS U.S. Imprints not USDA, Experiment or Extension
 LA English

L4 ANSWER 2 OF 16 AGRICOLA
 AN 97:61372 AGRICOLA
 DN IND20586821
 TI Molecular analysis of **plant sugar and amino acid transporters**.
 AU Bush, D.R.; Chiou, T.J.; Chen, L.
 CS Photosynthesis Research Unit, USDA, ARS, Urbana, IL.
 SO Journal of experimental botany, Aug 1996. Vol. 47 p. 1205-1210
 Publisher: Oxford : Oxford University Press.
 CODEN: JEBOA6; ISSN: 0022-0957
 NTE In the special issue: transport of photoassimilates / edited by J.L. Hall, D.A. Baker, and K.L. Oparka. Proceedings of an international conference held August 13-17, 1995, Canterbury, UK.
 Includes references
 CY England; United Kingdom
 DT Article; Law
 FS Non-U.S. Imprint other than FAO
 LA English

L4 ANSWER 3 OF 16 AGRICOLA
 AN 97:6272 AGRICOLA
 DN IND20541305
 TI Salt stress-induced proline transporters and salt stress-repressed broad specificity amino acid permeases identified by suppression of a yeast amino acid permease-targeting mutant.
 AU Rentsch, D.; Hirner, B.; Schmelzer, E.; Frommer, W.B.
 CS Eberhard-Karis-Universitat, Tübingen, Germany.
 SO The Plant cell, Aug 1996. Vol. 8, No. 8. p. 1437-1441
 Publisher: [Rockville, MD : American Society of Plant Physiologists, c1989-
 CODEN: PLCEEW; ISSN: 1040-4651
 NTE Includes references
 CY Maryland; United States
 DT Article
 FS U.S. Imprints not USDA, Experiment or Extension
 LA English

L4 ANSWER 4 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
 AN 2000:532412 BIOSIS
 DN PREV2000000532412
 TI **Amino acid transporters** are localized to transfer cells of developing pea seeds.
 AU Tegeder, Mechthild (1); Offler, Christina E.; Frommer, Wolf B.; Patrick, John W.
 CS (1) Plant Physiology, Zentrum fuer Molekularbiologie der Pflanzen, Universitaet Tuebingen, D-72076, Tuebingen Germany
 SO Plant Physiology (Rockville), (February, 2000) Vol. 122, No. 2, pp. 319-325. print.
 ISSN: 0032-0889.
 DT Article
 LA English
 SL English

L4 ANSWER 5 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
 AN 2000:463857 BIOSIS
 DN PREV2000000463857
 TI Effects of beta-ODAP, the Lathyrus sativus neurotoxin, and related natural compounds on **cloned glutamate receptors and transporters** expressed in Xenopus oocytes.

AU Kusama, Tadashi; Kusama-Eguchi, Kuniko; Ikegami, Fumio; Yamamoto, Akemi;
Kuo, Yu-Haey; Lambein, Fernand; Watanabe, Kazuko (1)
CS (1) Laboratory of Biology, Nihon University College of Pharmacy,
Funabashi, Chiba, 274-8555 Japan
SO Research Communications in Pharmacology and Toxicology, (2000) Vol. 5, No.
1-2, pp. 37-55. print.
ISSN: 1087-1101.
DT Article
LA English
SL English

=> d 14 6-10

L4 ANSWER 6 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
AN 2000:376622 BIOSIS
DN PREV200000376622
TI Analyses of expressed sequence tags of anther and anther-specific cDNA
clones in *Nicotiana tabacum*.
AU Choi, Goh; Hong, Choo Bong (1)
CS (1) Institute of Molecular Biology and Genetics, Seoul National
University, Seoul, 151-742 South Korea
SO Journal of Plant Biology, (June, 2000) Vol. 43, No. 2, pp. 107-113. print.
ISSN: 1226-9239.
DT Article
LA English
SL English

L4 ANSWER 7 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
AN 2000:296174 BIOSIS
DN PREV200000296174
TI Regulation of sugar, amino acid and peptide **plant** membrane
transporters.
AU Delrot, Serge (1); Atanassova, Rossitza; Maurousset, Laurence
CS (1) Laboratoire de Physiologie et Biochimie Vegetales, ESA CNRS 6161,
Universite Poitiers, 40 Avenue du Recteur Pineau, Batiment Botanique,
86022, Poitiers Cedex France
SO Biochimica et Biophysica Acta, (May 1, 2000) Vol. 1465, No. 1-2, pp.
281-306. print.
ISSN: 0006-3002.
DT General Review
LA English
SL English

L4 ANSWER 8 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
AN 1998:2901 BIOSIS
DN PREV199800002901
TI Expression cloning of a mammalian **amino acid**
transporter or modifier by complementation of a yeast transport
mutant.
AU Lin, Guorong; Cai, Xuejun; Johnstone, Rose M. (1)
CS (1) Dep. Biochem., McGill Univ., 3655 Drummond St., Montreal, PQ H3G 1Y6
Canada
SO Journal of Cellular Physiology, (Dec., 1997) Vol. 173, No. 3, pp. 351-360.
ISSN: 0021-9541.
DT Article
LA English

L4 ANSWER 9 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
AN 1997:501445 BIOSIS
DN PREV199799800648
TI Identification and characterization of the thiamine transporter gene of
Saccharomyces cerevisiae.
AU Singleton, Charles K.

CS Dep. Mol. Biol., Vanderbilt Univ., Box 1820, Stn. B, Nashville, TN 37235
 USA
 SO Gene (Amsterdam), (1997) Vol. 199, No. 1-2, pp. 111-121.
 ISSN: 0378-1119.
 DT Article
 LA English

L4 ANSWER 10 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
 AN 1997:419912 BIOSIS
 DN PREV199799719115
 TI Proline transport is restored in a yeast amino acid defective mutant by a
 G-actin like protein with an extended C-terminal.
 AU Khamessan, A.; Johnstone, R. M.
 CS McGill Univ., Montreal, PQ Canada
 SO FASEB Journal, (1997) Vol. 11, No. 9, pp. A967.
 Meeting Info.: 17th International Congress of Biochemistry and Molecular
 Biology in conjunction with the Annual Meeting of the American Society for
 Biochemistry and Molecular Biology San Francisco, California, USA August
 24-29, 1997
 ISSN: 0892-6638.
 DT Conference; Abstract
 LA English

=> d 14 11-16

L4 ANSWER 11 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
 AN 1997:273987 BIOSIS
 DN PREV199799565705
 TI A putative **amino acid transporter** is
 specifically expressed in haustoria of the rust fungus *Uromyces fabae*.
 AU Hahn, Matthias; Neef, Ulrike; Struck, Christine; Goettfert, Michael;
 Mendgen, Kurt (1)
 CS (1) Fak. Biol., Univ. Konstanz, D-78434 Konstanz Germany
 SO Molecular Plant-Microbe Interactions, (1997) Vol. 10, No. 4, pp. 438-445.
 ISSN: 0894-0282.
 DT Article
 LA English

L4 ANSWER 12 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
 AN 1996:529851 BIOSIS
 DN PREV199699252207
 TI The study of methionine uptake in *Saccharomyces cerevisiae* reveals a new
 family of amino acid permeases.
 AU Isnard, Anne-Dominique; Thomas, Dominique; Surdin-Kerjan, Yolande (1)
 CS (1) Centre Genetique Moleculaire, Centre Natl. Rech. Sci., 91198 Gif sur
 Yvette Cedex France
 SO Journal of Molecular Biology, (1996) Vol. 262, No. 4, pp. 473-484.
 ISSN: 0022-2836.
 DT Article
 LA English

L4 ANSWER 13 OF 16 BIOSIS COPYRIGHT 2002 BIOLOGICAL ABSTRACTS INC.
 AN 1996:120104 BIOSIS
 DN PREV199698692239
 TI Kinetics and specificity of a H⁺/**amino acid**
transporter from *Arabidopsis thaliana*.
 AU Boorer, Kathryn J. (1); Frommer, Wolf B.; Bush, Daniel R.; Kreman,
 Michael; Loo, Donald D. F.; Wright, Ernest M.
 CS (1) Dep. Physiol., UCLA Sch. Medicine, 10833 Le Conte Ave., Los Angeles,
 CA 90095-1751 USA
 SO Journal of Biological Chemistry, (1996) Vol. 271, No. 4, pp. 2213-2220.
 ISSN: 0021-9258.
 DT Article

LA English

L4 ANSWER 14 OF 16 CAPLUS COPYRIGHT 2002 ACS

AN 2001:431902 CAPLUS

DN 135:87920

TI Isolation of a promoter that directs microsporogenesis-associated gene expression in *Lilium longiflorum*

AU Uefuji, Hirotaka; Minami, Masayoshi; Takase, Hisabumi; Hiratsuka, Kazuyuki

CS Grad. Sch. Biol. Sci., Nara Inst. Sci. Technol., Takayama 8916-5, Ikoma, Nara, 630-0101, Japan

SO Plant Biotechnology (Tokyo) (2001), 18(2), 151-156

CODEN: PLBIF6; ISSN: 1342-4580

PB Japanese Society for Plant Cell and Molecular Biology

DT Journal

LA English

L4 ANSWER 15 OF 16 CAPLUS COPYRIGHT 2002 ACS

AN 2000:9190 CAPLUS

DN 132:103595

TI Sequence and analysis of chromosome 4 of the plant *Arabidopsis thaliana*

AU Mayer, K.; Schuller, C.; Wambutt, R.; Murphy, G.; Volckaert, G.; Pohl, T.;

Dusterhoft, A.; Stiekema, W.; Entlan, K.-D.; Terry, N.; Harris, B.;

Ansorge, W.; Brandt, P.; Grivell, L.; Rieger, M.; Weichselgartner, M.; De

Simone, V.; Obermaier, B.; Mache, R.; Muller, M.; Kreis, M.; Delseny, M.;

Pulldomenech, P.; Watson, M.; Schmidheini, T.; Reichert, B.; Portatelle,

D.; Perez-Alonso, M.; Boutry, M.; Bancroft, I.; Vos, P.; Hoheisel, J.;

Zimmermann, W.; Wedler, H.; Ridley, P.; Langham, S.-A.; McCullagh, B.;

Bilham, L.; Robben, J.; Van Der Schueren, J.; Grymonprez, B.; Chuang,

Y.-J.; Vandenbussche, F.; Braeken, M.; Weltjens, I.; Voet, M.; Bastiaens,

I.; Aert, R.; Defoor, E.; Weitzenegger, T.; Bothe, G.; Ramsperger, U.;

Hilbert, H.; Braun, M.; Holzer, E.; Brandt, A.; Peters, S.; Van Staveren,

M.; Dirkse, W.; Mooijman, P.; Lankhorst, R. Klein; Rose, M.; Haut, J.;

Kotter, P.; Berneiser, S.; Hempel, S.; Feldpausch, M.; Lamberth, S.; Van

Den Daele, H.; De Keyser, A.; Buysschaert, C.; Gielen, J.; Villarroel, R.;

De Clercq, R.; Van Montagu, M.; Rogers, J.; Cronin, A.; Quail, M.;

Bray-Allen, S.; Clark, L.; Doggett, J.; Hall, S.; Kay, M.; Lennard, N.;

McLay, K.; Mayes, R.; Pettett, A.; Rajandream, M.-A.; Lyne, M.; Benes, V.;

Rechmann, S.; Borkova, D.; Blocker, H.; Scharfe, M.; Grimm, M.; Lohnert,

T.-H.; Dose, S.; De Haan, M.; Maarse, A.; Schafer, M.; Muller-Auer, S.;

Gabel, C.; Fuchs, M.; Fartmann, B.; Granderath, K.; Dauner, D.; Herzl, A.;

Neumann, S.; Argiriou, A.; Vitale, D.; Liguori, R.; Piravandi, E.;

Massenet, O.; Quigley, F.; Clabaud, G.; Mundlein, A.; Felber, R.;

Schnabl, S.; Hiller, R.; Schmidt, W.; Lecharny, A.; Aubourg, S.; Cheddor,

F.; Cooke, R.; Berger, C.; Montfort, M.; Casacuberta, E.; Gibbons, T.;

Weber, N.; Vandenbol, M.; Bargues, M.; Terol, J.; Torres, A.; Perez-Perez,

A.; Purnelle, B.; Bent, E.; Johnson, S.; Tacon, D.; Jesse, T.; Heijnen,

L.; Schwarz, S.; Scholler, P.; Heber, S.; Francs, P.; Bielke, C.;

Frishman, D.; Haase, D.; Lemcke, K.; Mewes, H. W.; Stocker, S.; Zaccaria,

P.; Bevan, M.; Wilson, R. K.; De La Bastide, M.; Habermann, K.; Parnell,

L.; Dedhia, N.; Gnoj, L.; Schutz, K.; Huang, E.; Spiegel, L.; Sehkoni, M.;

Murray, J.; Sheet, P.; Cordes, M.; Abu-Threideh, J.; Stoneking, T.;

Kalicki, J.; Graves, T.; Harmon, G.; Edwards, J.; Latrelle, P.; Courtney,

L.; Cloud, J.; Abbott, A.; Scott, K.; Johnson, D.; Minx, P.; Bentley, D.;

Fulton, B.; Miller, N.; Greco, T.; Kemp, K.; Kramer, J.; Fulton, L.;

Mardis, E.; Dante, M.; Pepin, K.; Hillier, L.; Nelson, J.; Spieth, J.;

Ryan, E.; Andrews, S.; Geisel, C.; Layman, D.; Du, H.; Ali, J.; Berghoff,

A.; Jones, K.; Drone, K.; Cotton, N.; Joshi, C.; Antonoiu, B.; Zidanic,

M.; Strong, C.; Sun, H.; Lamar, B.; Yordan, C.; Ma, P.; Zhong, J.;

Preston, R.; Vil, D.; Shekher, M.; Matero, A.; Shah, R.; Swaby, I'K.;

O'Shaughnessy, A.; Rodriguez, M.; Hoffman, J.; Till, S.; Granat, S.;

Shohdy, N.; Hasegawa, A.; Hameed, A.; Lodhi, M.; Johnson, A.; Chen, E.;

Marra, M.; Martienssen, R.; McCombie, W. R.

CS GSF-Forschungszentrum f. Umwelt u. Gesundheit, Munich Information Center for Protein Sequences am Max-Planck-Institut f. Biochemie, D-82152,

Germany
 SO Nature (London) (1999), 402(6763), 769-777
 CODEN: NATUAS; ISSN: 0028-0836
 PB Macmillan Magazines
 DT Journal
 LA English
 RE.CNT 50 THERE ARE 50 CITED REFERENCES AVAILABLE FOR THIS RECORD
 ALL CITATIONS AVAILABLE IN THE RE FORMAT

L4 ANSWER 16 OF 16 CAPLUS COPYRIGHT 2002 ACS
 AN 1994:212912 CAPLUS
 DN 120:212912
 TI A cDNA for a **plant amino acid transporter** and its expression in yeasts and **plants**
 IN Frommer, Wolf Bernd
 PA Institut fuer Genbiologische Forschung Berlin GmbH, Germany
 SO Ger. Offen., 15 pp.
 CODEN: GWXXBX
 DT Patent
 LA German
 FAN.CNT 1

	PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
PI	DE 4222315 ✓	A1	19940113	DE 1992-4222315	19920705
	IL 106153	A1	20000928	IL 1993-106153	19930628
	WO 9401559	A2	19940120	WO 1993-EP1736	19930701
	WO 9401559	A3	19940317		
	W: AU, CA, HU, JP, KR, RU, US				
	RW: AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE				
	AU 9345642	A1	19940131	AU 1993-45642	19930701
	AU 667942	B2	19960418		
	EP 652955	A1	19950517	EP 1993-915801	19930701
	EP 652955	B1	19991013		
	R: AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE				
	HU 68809	A2	19950728	HU 1995-30	19930701
	HU 220252	B	20011128		
	EP 924300	A2	19990623	EP 1998-124190	19930701
	EP 924300	A3	19991208		
	R: AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IT, LI, LU, NL, SE, MC, PT, IE				
	AT 185603	E	19991015	AT 1993-915801	19930701
	ES 2139665	T3	20000216	ES 1993-915801	19930701
	US 5719043	A	19980217	US 1995-362512	19950105
	US 6245970	B1	20010612	US 1997-964939	19971105
PRAI	DE 1992-4222315	A	19920705		
	EP 1993-915801	A3	19930701		
	WO 1993-EP1736	A	19930701		
	US 1995-362512	A3	19950105		

=> FIL STNGUIDE
 COST IN U.S. DOLLARS
 FULL ESTIMATED COST

SINCE FILE ENTRY	TOTAL SESSION
46.38	46.59

FILE 'STNGUIDE' ENTERED AT 10:37:41 ON 13 NOV 2002
 USE IS SUBJECT TO THE TERMS OF YOUR CUSTOMER AGREEMENT
 COPYRIGHT (C) 2002 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, JAPAN SCIENCE
 AND TECHNOLOGY CORPORATION, AND FACHINFORMATIONSZENTRUM KARLSRUHE

FILE CONTAINS CURRENT INFORMATION.
 LAST RELOADED: Nov 8, 2002 (20021108/UP).

Angeleitete Arbeiten am Lehrstuhl Pflanzenphysiologie (Staatsexamen, Diplomarbeiten, Dissertationen)

2001

STAATSEXAMENSARBEITEN

- Döpke, Corinna: **Untersuchung regulatorischer Elemente in Promotoren von Nukleobasen-Transportergenen aus *Arabidopsis thaliana***

DIPLOMARBEITEN

- Meyer, Andreas: **Isolierung und Charakterisierung von Mitgliedern der Prolintransporter (ProT) Genfamilie aus *Arabidopsis thaliana* und *Lycopersicon esculentum***
- Hermesdorf, Anne: **Analyse der Expression von AtAMT2;1, einem Ammoniumtransportergen aus *Arabidopsis thaliana* sowie Lokalisierung des Genprodukts in Hefezellen**
- Frerich, Anke: **Molekularbiologische Untersuchungen zum Ureidtransport in Leguminosen**
- Schmidt, Roberto: **Molekulare und histochemische Charakterisierung der Aminosäure-Permease AtAAP8 aus *Arabidopsis thaliana* L.**

DISSERTATIONEN

- Schulze, Waltraud: **Molecular characterization of the distinct sucrose transporter homologue AtSUT2 in *Arabidopsis*: does it make sense as a sensor?**
- Funck, Dietmar: **Glucose and proline dependent signal transduction in *Arabidopsis*: contributions to balancing life and death**

2000

DIPLOMARBEITEN

- Wilken, Stephanie: **Characterisation of the physiological role of ammonium transporters (AMTs) in transgenic tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.)**
- Deuschle, Karen: **Identification and characterization of a pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase gene from *Arabidopsis thaliana* and its role in stress metabolism**
- Borel, Irina: **Regulation of AMT1 ammonium transporters by nitrogen in *Lycopersicon esculentum* Mill. and characterisation of AMT1 transport kinetics**
- Knoblich, Patrick: **Physiologische und molekularbiologische Untersuchungen an Glukose-insensitiven *Arabidopsis thaliana* Pflanzen**

DISSERTATIONEN

- Gazzarini, Sonia: **Molecular and biochemical characterization of an ammonium transporter gene family (AMT1) in *Arabidopsis thaliana***
- Weise, Andreas: **Expression analysis of sucrose transporter genes from *Lycopersicon esculentum* and *Arabidopsis thaliana***

- Barker, Laurence: **Molecular characterisation members of the sucrose transporter gene family from solanaceous plants**
- Bürkle, Lukas: **Charakterisierung von Cytokinin- und Purin-Transportergenen aus *Arabidopsis thaliana***
- ✓ • Borchers, Anja: **Isolierung und Charakterisierung von Aminosäuretransportern aus *Arabidopsis thaliana* und *Lycopersicon esculentum***

1999

DIPLOMARBEITEN

- Beck, Markus: **Transkriptionelle Regulation von Ammoniumtransportern in Tomate.**
- Hammes, Ulrich: **Untersuchungen an potentiellen Ammoniumsensoren aus *Saccharomyces cerevisiae* und *Arabidopsis thaliana*.**

DISSERTATIONEN

- Gaschler, Katja: **Function of the oxidative burst in plant-fungus interactions. A physiological and molecular study.**

1998

STAATSEXAMENSARBEITEN

- Feinauer, Simone: **Molekulare und strukturelle Charakterisierung von Ammoniumtransportern in Tomate.**
- Michel, Heike: **Identifizierung von Saccharosetransportergenen in *Arabidopsis thaliana*.**

DIPLOMARBEITEN

- Geyer, Franziska: **Expression of sucrose transporters in oocytes of *Xenopus laevis*.**
- Schulze, Waltraud: **The expression of transporters for ammonium, amino acid and peptides in pitchers of the carnivorous plant *Nepenthes alata*.**
- Grallath, Silke: **Charakterisierung von Prolintransportern aus *Arabidopsis thaliana* und *Lycopersicon esculentum* mittels T-DNA-Insertionsmutagenese und *in situ* RNA- Lokalisierung.**
- Vess, Christoph: **Isolierung und Charakterisierung von Peptidtransportern aus *Lycopersicon esculentum* L. und *Arabidopsis thaliana* L.**
- ✓ • Bock, Ulrike: **Isolierung und Charakterisierung von Aminosäuretransportern aus *Lycopersicon esculentum*.**

DISSERTATIONEN

- Sterr, Tobias: **Identifizierung einer Ubiquitin-Protein-Ligase AtPUL1 aus *Arabidopsis thaliana* L. bei Untersuchung der transkriptionalen und translationalen Regulation von Transportprozessen in Pflanzen.**

1997

STAATSEXAMENSARBEITEN

- Voigt, Thomas: **Molekulare und physiologische Charakterisierung von Ammoniumtransportern in Tomatenblättern.** Tübingen

DIPLOMARBEITEN

- Buschmann, Henrik: **Molekulare Charakterisierung von pflanzlichen Zuckertransportern aus *Lycopersicon esculentum* und *Solanum tuberosum*.** Berlin

DISSERTATIONEN

- Fischer, Wolf-Nicolas: **Substratspezifität und Transportmechanismus pflanzlicher Aminosäuretransporter in Relation zu ihrer physiologischen Funktion.** Tübingen
- Hellmann, Hanjo: **Untersuchungen zur Signaltransduktion Metabolit-regulierter Gene am Beispiel eines Patatin Klasse I Promotors in *Arabidopsis thaliana*.** Tübingen
 - Gillissen, Bernhard: **Einfluß von erhöhten atmosphärischen CO₂-Konzentrationen auf die Genexpression in *Solanum tuberosum* und *Nicotiana tabacum* und Transport von Nucleobasen und Nucleobasenderivaten in *Arabidopsis thaliana*.** Tübingen

1996

DISSERTATIONEN

- Hirner, Brigitte: **Molekulare Charakterisierung der Be- und Entladungsvorgänge von Saccharose und Aminosäuren in *Solanum tuberosum*, *Lycopersicon esculentum* und *Arabidopsis thaliana*.** Berlin
- Kühn, Christina: **Charakterisierung und Lokalisierung des Saccharosetransporters SUT1 in Solanaceen.** Berlin

1995

DIPLOMARBEITEN

- Bergfeld, Alice: **Studien zum Ammoniumtransport in höheren Pflanzen**

DISSERTATIONEN

- ✓ Kwart, Marion: **Untersuchungen zum Aminosäuretransport in *Arabidopsis thaliana* und *Solanum tuberosum*.** Berlin
- Laloï, Maryse: **Caractérisation de transporteurs (efflux du saccharose, influx de peptides) impliqué dans la distribution des assimilats.** Poitiers/Berlin

1994

DIPLOMARBEITEN

- Bürkle, Lukas: **Molekulare Analyse des Saccharose-Transporters in Tabakpflanzen.** Berlin

1993

DIPLOMARBEITEN

- Fischer, Wolf-Nicolas: **Charakterisierung von Aminosäure- und Saccharosetransportproteinen höherer Pflanzen.** Berlin
- Harms, Karsten: **Charakterisierung und Regulation von Plasmamembran Protonen-ATPase Genen aus Kartoffel (*Solanum tuberosum* L.).** Berlin

DISSERTATIONEN

- Martin, Thomas: **Untersuchungen zur Signaltransduktion metabolisch regulierter Gene in Pflanzen.** Berlin
- Riesmeier, Jörg W.: **Isolierung und Charakterisierung von Saccharosetransporter cDNA-Klonen aus höheren Pflanzen sowie Untersuchungen zur Biochemie und Physiologie des Saccharosetransportes.** Berlin

1992

DIPLOMARBEITEN

- Wöhner, Rosa-Valentina: **Isolierung und Charakterisierung von Plasmamembran H⁺-ATPase Genen aus Kartoffel (*Solanum tuberosum* L.).** Berlin

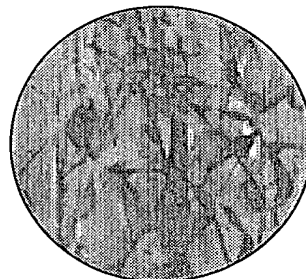




Transporter, Moleküle & Kanäle

Transporters, Molecules & Channels

Bestimmte Eiweißmoleküle entscheiden darüber, wie Substanzen innerhalb einer Pflanze transportiert werden. Wer sie kennt, kann die Eigenschaften der Organismen gezielt verändern. Certain protein molecules determine how substances are transported within a plant. Knowledge about these proteins makes it possible to change specific properties of the organism.



Weltweit werden jährlich rund drei Milliarden Tonnen Getreide, 300 Millionen Tonnen an ölhaltigen Pflanzen sowie 160 Millionen Tonnen an Wurzel- und Knollenfrüchten geerntet – theoretisch genug, um alle Menschen auf unserer Erde satt zu machen. Dennoch ist etwa ein Sechstel der Menschheit – vor allem in den Entwicklungsländern – chronisch unterernährt. Und wenn die Menschen sich weiterhin so rasant vermehren wie zurzeit, werden es in wenigen Jahrzehnten noch sehr viel mehr sein.

Um sie zu versorgen stehen heute insgesamt rund drei Milliarden Hektar nutzbare Böden zur Verfügung, von denen knapp die Hälfte zum Anbau von Ackerpflanzen verwendet werden, der Rest als Naturweide, Wald- und Strauchland. Doch von diesen Böden gehen nach Untersuchungen der Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen (FAO) jährlich fünf bis zwölf Millionen Hektar durch Wind- und Wassererosion, durch Versalzung oder zu intensive Nutzung verloren. Und 38 Prozent aller landwirtschaftlich genutzten Flächen sind von der so genannten Boden-Degradation betroffen, das heißt, ihre biologischen, chemischen und physikalischen Eigenschaften verschlechtern sich permanent. Hinzu kommt, dass vor allem in den industrialisierten Ländern große Mengen an Kunstdünger, der nur teilweise von den Kulturpflanzen aufgenommen wird, in die Böden gelangt und das Trinkwasser zum Beispiel mit Nitraten belastet. Und in Zukunft könnten Kulturpflanzen wegen der globalen Klimaerwärmung – die droht, weil die Menschheit zu viele fossile Brennstoffe verfeuert und so den Treibhauseffekt verstärkt – neuen Umweltbedingungen ausgesetzt sein.

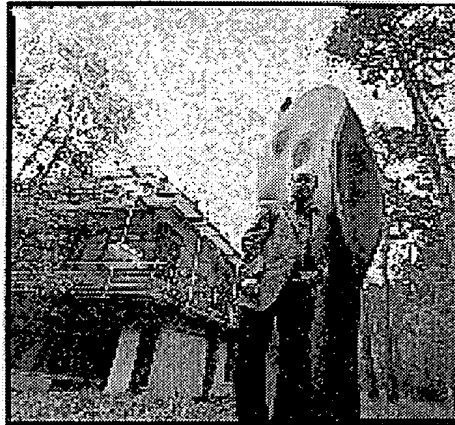
Die Landwirtschaft steht also vor gewaltigen Herausforderungen, die sich nur mit neuen Sorten von anpassungsfähigen Nutzpflanzen meistern lassen. Es gilt Pflanzen ►

Worldwide, more than three billion tons of grain, three hundred million tons of oil-containing plants, and one-hundred sixty million tons of root and tuberous plants are harvested annually – in theory, enough to feed everyone on the planet. Nonetheless, approximately one-sixth of humanity – especially those living in the developing countries – suffer from chronic malnutrition. And if the

world's population continues to grow as rapidly as currently, then the number of undernourished will increase substantially in just a few decades.

To provide for the world's population, some three billion hectares (approximately 7.5 billion acres) of fertile ground are currently available for growing agricultural products; almost half

of this area is used for raising agricultural plants, while meadows, forests, and bushy areas make up the rest. Yet according to reports of the UN's Food and Agriculture Organization (FAO), five to twelve million hectares (12 to 30 million acres) of this land are being lost annually due to wind and water erosion, salt contamination, or overuse. And 38% of all the land that is used agriculturally is "degraded," which means that the land's biological, chemical, and physical properties are deteriorating continuously. In addition, large amounts of chemical fertilizers are used, especially in the industrialized countries, only some of which are absorbed by plants under cultivation. One result is, for example, that nitrates pollute the drinking water. Furthermore, in the future these plants will be exposed to altered environmental conditions, such as will result from global warming, which poses a threat because too much fossil fuel is being burned, strengthening the green house effect. Agriculture thus faces immense challenges that can ►



*Pflanzen-Kunst:
Norbert Sauer
vor einer Skulptur,
die einer Samen-
kapsel nachemp-
funden ist.*

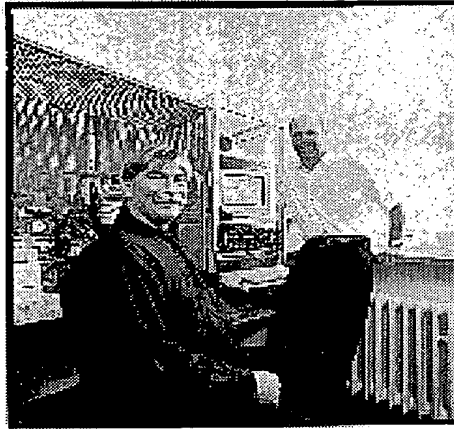
*Plant art:
Norbert Sauer
in front of a
sculpture that
was created
after a seed.*

zu züchten, die auf salzhaltigen, trockenen oder nährstoffarmen Böden wachsen, die Dünger optimaler aufnehmen, höhere Erträge liefern, mehr Vitamine oder höherwertigeres Eiweiß enthalten. Solche Pflanzen zu erhalten, ist das Ziel der diesjährigen Körber-Preisträger, und das Zauberwort für ihre Züchtung heißt Gentechnik.

Obwohl der Begriff für viele Bundesbürger eine Art „rotes Tuch“ ist, haben die in den letzten Jahrzehnten entwickelten molekular-genetischen Methoden den Züch-tern unschätzbare neue Werkzeuge verschafft. Zum einen lassen sich mit ihnen die biochemischen Vorgänge in der Pflanze viel besser erforschen und damit auch so weit verstehen, dass man sie gezielt beeinflussen kann. Zum anderen aber lässt sich durch einen gentechnischen Eingriff quasi mit einem Schlag eine neue Eigenschaft in jede beliebige Pflanze übertragen und damit eine neue Pflanzensorte viel schneller züchten als früher.

Um solche Sorten zu erhalten und Nutzpflanzen zu verbessern, ist eine genaue Kenntnis von deren molekularem Innenleben wichtig. Vor allem, so haben die Forschungen der vergangenen Jahrzehnte gezeigt, kommt es darauf an zu verstehen, wie die Pflanze Substanzen transportiert: Wie sie Wasser und Mineralien aufnimmt und durch ihre Organe befördert, wo sie bestimmte Inhaltstoffe produziert, wie sie sie zu anderen Stellen bringt und dort lagert.

„Anfang der 70er Jahre wurde erstmals gezeigt, wie Pflanzen Substanzen aktiv aufnehmen“, erzählt Professor Dr. Norbert Sauer, Inhaber des Lehrstuhls für Molekulare Pflanzenphysiologie an der Universität Erlangen-Nürnberg. Doch bis die Forscher die dafür zuständigen „Trans-



Experten-Talk: Rainer Hedrich und Norbert Sauer beim wissenschaftlichen Gedankenaustausch in Würzburg.

Experts in Discussion: Rainer Hedrich and Norbert Sauer at a scientific discussion in Würzburg.

only be met by the use of new types of useful plants that are able to better adapt to their surroundings. The goal must be to cultivate plants that grow on salty, dry, or impoverished ground, that use fertilizer optimally, that provide higher yields, and that produce more vitamins or higher quality protein. The creation of such plants is the goal of this year's winners of the Körber Prize, and the magic formula describing the key to the improved cultivation they are working toward is "genetic engineering."

Although this term makes many citizens of Germany see red, the methods of molecular genetics that have been developed in recent decades provide new tools of inestimable value to those working to develop better plants. On the one hand, these methods considerably improve our ability to study the biochemical processes in plants, and thus to understand them and influence them directly. On the other hand, genetic engineering makes it possible for a new property to be transmitted to any and every plant at one fell swoop and thus for a new type of plant to be cultivated much more rapidly than has previously been the case.

To obtain such new plants and to improve useful plants, it is important for us to have precise knowledge of the internal molecular workings of plants. Research conducted in the past few decades has shown that it is especially important for us to understand how the plants transport substances: how they absorb water and minerals and transport them through their organs, where they produce certain substances, and how these are transported to other spots for storage.

Es gilt Pflanzen zu züchten, die auf salzhaltigen, trockenen oder nährstoffarmen Böden wachsen.

The goal must be to cultivate plants that grow on salty, dry, or impoverished ground.

portermoleküle“ identifizieren und untersuchen konnten, sollte noch einige Zeit vergehen. Sauer: „Es war 1989, als meine Arbeitsgruppe die ersten drei Gene für Transportproteine klonieren konnte. Ab 1990 hatten wir dann ein Testsystem, um diese Moleküle in Hefen studieren zu können, und ab 1992 ist das Gebiet der Transporter-Forschung regelrecht explodiert.“

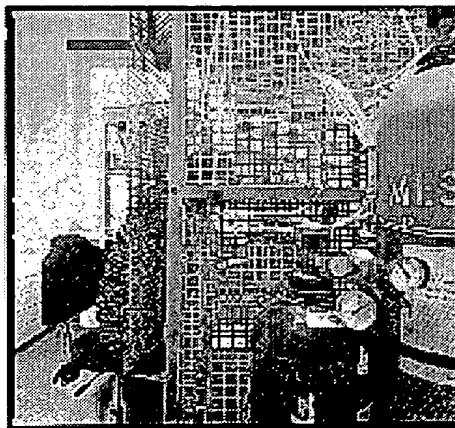
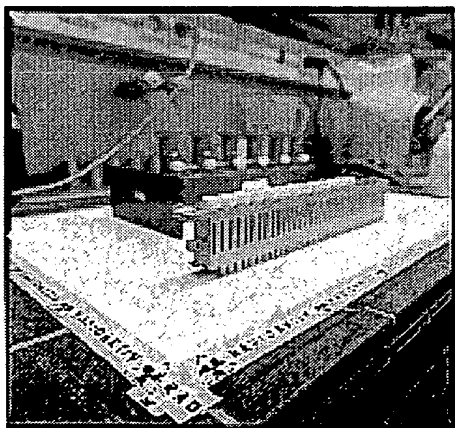
Weltweit als Erste hatten Professor Sauer und seine Mitarbeiter Proteine beschrieben, die in den Membranhüllen von Pflanzenzellen sitzen und gezielt dafür sorgen, dass bestimmte Substanzen in die Zelle hinein- oder hinausgelangen – in diesem Fall waren es die Moleküle des Traubenzuckers. Schon bald begann Sauer, mit Kollegen wie Professor Dr. Wolf Frommer vom Zentrum für Molekularbiologie der Pflanzen der Eberhard-Karls-Universität Tübingen und Professor Dr. Rainer Hedrich vom Julius-von-Sachs-Institut für Biowissenschaften der Universität Würzburg zusammenzuarbeiten. Hedrich und seine Mitarbeiter hatten schon 1984 mithilfe einer sehr empfindlichen biophysikalischen Meßmethode nachweisen können, dass Kanäle in den Pflanzenzellen Kalium-Ionen selektiv durchlassen. Und Frommers Arbeitsgruppe konnte 1992 die ersten Gene für pflanzliche Saccharose- und Aminosäuretransporter identifizieren.

„Eine jede Pflanzenzelle ist von einer Lipid-Membran umgeben“, erläutert Professor Frommer das grundlegende Prinzip. „Die Lipide – fettähnliche Moleküle – bilden eine undurchlässige Hülle quasi wie das Gummi eines Luftballons. Aber wenn ich etwas völlig dicht umschließe, ►

“At the beginning of the 1970s we first learned how plants actively absorb substances,” as Professor Norbert Sauer, holder of the chair in Molecular Plant Physiology at the University of Erlangen-Nürnberg, explains. But more time elapsed before researchers managed to identify and examine the transport molecule that was responsible. “It was not until 1989 that my research group succeeded in cloning the first three genes responsible for transport proteins. Then in 1990 we had a test system for studying these molecules in yeast. The field of transport research exploded in 1992.”

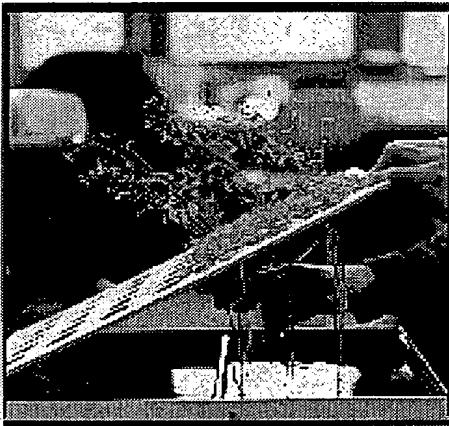
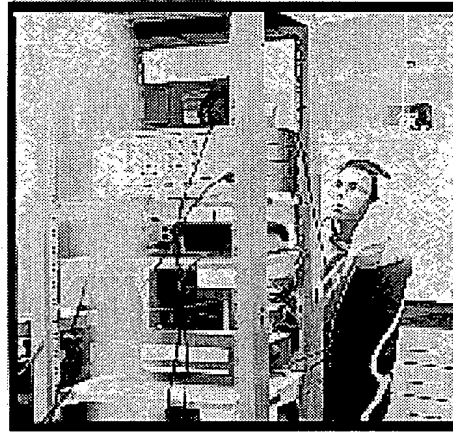
Professor Sauer and his staff were the first in the world to describe the proteins in the membrane surface of plant cells that are directly responsible for letting certain substances into or out of the cell. In this case, the molecules were glucose. Sauer soon began to collaborate with colleagues such as Professor Wolf Frommer from the Center for Molecular Biology for Plants at the Eberhard Karls University in Tübingen and Professor Rainer Hedrich from the Julius von Sachs Institute for Bioscience at the University of Würzburg. Hedrich and his coworkers had been able to prove in 1984, by using a very sensitive biophysical method of measurement, that channels in the plant cells let potassium ions through selectively. And in 1992 Frommer's research group identified the first genes in plants for transporting sucrose and amino acids.

“Each and every plant cell is surrounded by a lipid membrane,” as Professor Frommer explains the ►



*Molekül-Schau:
Radioaktive Markierung
von Substanzen und der
Blick durchs Mikroskop
helfen beim Aufklären
der pflanzlichen
Transportvorgänge.*

*Molecule Show:
Radioactive Marking of
substances and the view
through the microscope
help to clarify transport
processes in plants.*



Arbeitsräume: Substanzen werden in Zentrifugen getrennt und Messwerte mit komplizierten Apparaturen erfasst, um dem Geheimnis der Wurzeln bei den Arabidopsis-Versuchspflänzchen auf die Spur zu kommen.

Laboratory: Substances are separated in centrifuges, and measurements are recorded with complex apparatus in researchers' efforts to uncover the secrets of the roots of the Arabidopsis test plant.

dann ist das natürlich gleichzeitig schädlich, weil ich es isoliere. Ich brauche also einen kontrollierten Austausch. Deshalb hat die Natur Poren in dieser Hülle entwickelt – Eiweißmoleküle, die fest in die Membran eingebettet sind und speziell dazu dienen, selektiv Substanzen durchzulassen oder sogar aktiv zu transportieren.“

Bei der Erforschung solcher Transportprozesse in Pflanzen haben die Europäer Pionierarbeit geleistet und so fiel es der Körber-Stiftung nicht schwer, ihren diesjährigen, mit 750.000 Euro dotierten Körber-Preis für die Europäische Wissenschaft an fünf Forscher zu vergeben, die daran maßgeblich mitgewirkt haben. Mit dabei sind neben Frommer, Sauer und Hedrich der Schweizer Botaniker

fundamental principle. "The lipids, which are molecules resembling fats, form an impenetrable surface somewhat like the rubber of a balloon. But when I encapsule something in an airtight membrane, then I isolate it, which is something that is naturally harmful. I thus need a controlled exchange. That is why nature developed the pores in this surface, i.e., the protein molecules that are firmly embedded in the membrane and whose special function is to selectively let substance through or even to actively serve as transporters."

Europeans have provided ground breaking work in studying such transport processes. As a result, it was not difficult for the Körber Foundation to award its Körber

*Man muss sich klar machen, wie eine Pflanze im Prinzip funktioniert.
You have to understand in principle how a plant functions.*

Professor Dr. Enrico Martinoia vom Institut de Botanique der Université de Neuchâtel und der Brite Professor Dr. Dale Sanders vom Plant Laboratory am Biology Department der University of York. Man kennt sich seit Jahren, da die Zahl der Spezialisten für Membranforschung überschaubar ist, trifft sich regelmäßig auf Kongressen, tauscht Forschungsergebnisse aus, lässt Doktoranden ihre Kenntnisse durch Arbeit bei den Kollegen erweitern.

Um zu verstehen, weshalb die Erforschung solcher Transportprozesse und der dabei beteiligten Moleküle so wichtig ist, muss man sich klar machen, wie eine Pflanze im Prinzip funktioniert. Ihre wichtigsten Organe sind Blätter, Stängel oder Stamm, Wurzeln und Blütenstände. Im Blatt werden mithilfe von Sonnenenergie Zucker und andere Stoffe gebildet, die chemische Energie speichern oder die als Baustoffe für die Pflanze dienen. Dabei nimmt das Blatt Kohlendioxid aus der Umwelt auf und gibt den für uns Menschen lebenswichtigen Sauerstoff ab. Die Wurzel dagegen hat vor allem die Aufgabe, Nährstoffe und Wasser aus den Tiefen des Bodens zu holen. Der Stängel verbindet diese beiden Organe und gibt der Pflanze ihren Halt, während der Blütenstand ausschließlich für die Fortpflanzung zuständig ist, indem er weibliche und männliche Keimzellen und später den Samen bildet.

Funktionieren kann das Ganze nur, wenn die in den verschiedenen Organen gebildeten, aufgenommen oder benötigten Substanzen auch von einem zum anderen transportiert werden können – und dazu gibt es ein spezielles Verkehrssystem, welches Blätter, Blüten und Wurzeln über den Stängel miteinander verbindet. „Man kann dies mit dem U-Bahn-System einer Stadt vergleichen, wobei die Transportermoleküle die Rolle von Helfern übernehmen, die die Passagiere in die ►

European Science Award 2001, which is accompanied by 750,000 Euros, to five researchers who have played a pivotal role in this work. They include, in addition to Frommer, Sauer, and Hedrich, Professor Enrico Martinoia from the Institute of Botany at the University of Neuchâtel in Switzerland and Professor Dale Sanders from the Plant Laboratory at the Biology Department of the University of York. They have known each other for years, which is not surprising since there is only a handful of specialists in membrane research, and they meet regularly at conferences, exchange their results, and have their own students extend their knowledge by working with these colleagues.

In order to understand why research in such transport processes and the molecules that are involved in them are so important, you have to understand in principle how a plant functions. Its most important organs are leaves, stalks, roots, and inflorescence. In the leaves, solar energy helps create sugar and other substances that store chemical energy or serve as the plant's building blocks. In the process, a leaf extracts carbon dioxide from the atmosphere and emits oxygen, a substance ►

*Innenwelt:
Unter dem Mikroskop
werden Leitungsbahnen
deutlich, die Stoffe in der
Pflanze transportieren.*

*On the Inside:
the microscope clearly
shows the channels
that transport the
substances in a plant.*



Waggons hinein- oder hinausschleusen“, verdeutlicht Professor Frommer, der Koordinator der Körper-Preisträger. Im Gegensatz zu Menschen sind diese „Passagiere“ allerdings recht dumm, denn sie wissen weder, wann und wo sie einsteigen, noch wohin sie fahren und wieder aussteigen sollen. Dafür sind ausschließlich die Helfer zuständig, die Transportermoleküle, die quasi am Bahnsteig stehen und wachen. An der einen Stelle „schnappen“ sie einen bestimmten Typ von Passagier – zum Beispiel ein Zuckermolekül, das im Blatt gebildet wird – und setzen ihn in den Waggon. An einer anderen Stelle – dort wo der Zucker gerade benötigt wird, zum Beispiel in der Wurzel – warten andere Helfer und holen den eintreffenden Passagier heraus.

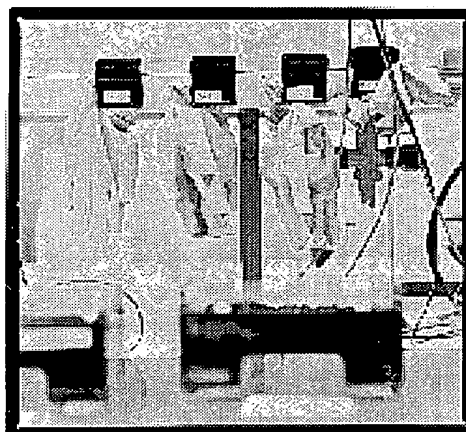
Etwa zehn Millionen Hektar gehen jährlich durch Versalzung verloren. Some 10 million hectares (25 million acres) of land are lost every year to salt contamination.

Mehr als hundert solcher Helfer beziehungsweise Transportermoleküle haben die Wissenschaftler inzwischen identifiziert und untersucht – eine gar nicht einfache Aufgabe. Um sie dennoch zu lösen, haben die Forscher ein spezielles System entwickelt. Mit einem raffinierten Verfahren ist es ihnen möglich, pflanzliche Gene in Bäckerhefe einzuschleusen, sie zu identifizieren und zu vermehren. Sie erhalten schließlich einen bestimmten Hefestamm, der das zu untersuchende pflanzliche Transportermolekül in seiner Zellhülle massenhaft enthält und sich beliebig für Analysezwecke züchten lässt. Dank einer weiteren biologischen Methode wurde es zudem möglich, die Transportermoleküle auch in ihrer natürlichen Umgebung – der Pflanzenzelle – zu untersuchen und sie Schritt für Schritt zu verändern.

Wie aber können die Forscher die dabei gewonnenen Ergebnisse anwenden, um ganz konkret eine Pflanze mit besseren Eigenschaften zu erhalten? Eines der größten Probleme in der Landwirtschaft ist die zunehmende Versalzung von Böden, da bei einer permanenten künstlichen Bewässerung nach dem Verdunsten des Wassers immer

vital for humans. In contrast, the roots have the task of taking nutrients and water from the ground. The stalk links these organs and gives the plant its support, while the inflorescence is solely responsible for the plant's reproduction by forming the feminine and masculine germ cells and later the seeds.

This whole can only function if the substances formed, absorbed, and required by the different organs can be transported from one organ to another. To this end there is a special transportation system linking the leaves, blossoms, and roots through the stalk. "You can compare this with a city's subway system, in which



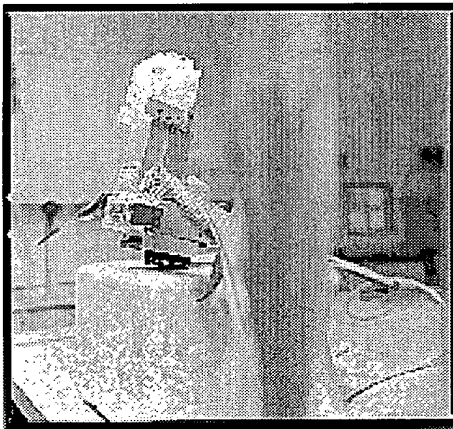
Laborordnung: Jeder Mitarbeiter hat seine eigenen Handschuhe, mit denen er in den Forschungsräumen hantiert.

Order in the Laboratory: Each researcher has his own gloves for working in the labs.

the transporter molecules play the role of helpers who move passengers in and out of the cars," according to Professor Frommer, the coordinator of the Prize winners. In contrast to people, these passengers are simply dumb, not knowing when and where to get in, where they are going, or when to get out. All this is the task of the helpers, i.e., the transporter molecules, that stand – so to speak – at the track and watch everything. At one point, they grab one type of passenger, for example, a sugar molecule that was formed in a leaf, and put it in a car. At another position, where sugar

etwas Salz zurückbleibt und sich anreichert. Pflanzen, die auch bei hohem Salzgehalt gut wachsen, wären daher wünschenswert. „Etwa zehn Millionen Hektar gehen jährlich durch Versalzung verloren“, verdeutlicht Professor Dr. Dale Sanders die Dimension des Problems. Diese Fläche entspricht mehr als einem Viertel des Gebietes der Bundesrepublik Deutschland! Das Ziel von Sanders und seinen Mitarbeitern ist es daher, Pflanzen zu züchten, die auch auf versalzten Böden gedeihen.

„Wir haben ein Membran-Transportsystem entdeckt, das in den Wurzelzellen die Aufnahme von Natrium-Ionen reguliert“, erläutert der Forscher. Natrium ist der für die



*Versuchstortur:
Licht, Wasser, Nähr-
stoffe – in Würzburg
werden Einflüsse auf
das Gedeihen von Mais-
pflanzen analysiert*

*Experimental Rigor:
Light, water, nutrients –
the factors influencing
the successful growth
of corn plants are
analyzed in Würzburg.*

Pflanze schädlichere Teil der beiden Partner von Kochsalz (Natriumchlorid). Professor Sanders und seine Arbeitsgruppe hoffen jetzt, mithilfe der Förderung durch die Körber-Stiftung die dabei beteiligten molekularen Mechanismen aufklären zu können. Sind sie bekannt, lassen sich die Natrium-Transporter möglicherweise gezielt beeinflussen oder gar ausschalten, um die Aufnahme von Natrium durch die Wurzel zu begrenzen und die Pflanze dadurch widerstandsfähig zu machen.

Auch Hitze und Trockenheit machen den grünen Organismen vielfach zu schaffen, und sie dagegen zu wappnen, ist eines der Anliegen von Professor Dr. Rainer Hedrich und seiner Arbeitsgruppe. Die Forscher haben entdeckt, dass bestimmte Transportermoleküle – es handelt sich ►

happens to be needed, such as in a root, other helpers are waiting to take the passenger out when it arrives.

Scientists have in the meantime identified and examined more than a hundred such helpers (i.e., transporter molecules), which was no easy task. To achieve this, the researchers have developed a special system. They employ an elegant method to insert plant genes in baker's yeast, identify them, and to let them multiply. The result, ultimately, is a certain strain of yeast, the cell membrane of which contains large numbers of the transporter molecule to be examined and which can be cultivated at will for the purposes of analysis. Thanks to another biological method, it has also become possible to examine the transporter molecules even in their natural surroundings, the plant cell, and to change them step by step.

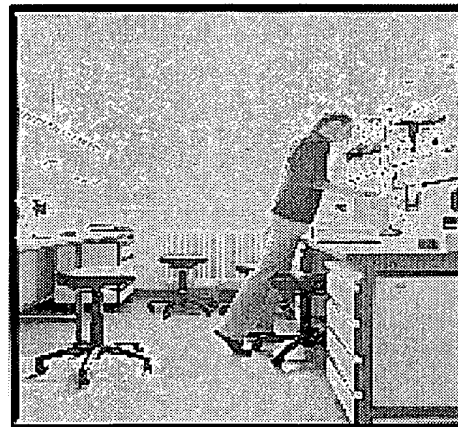
And how can the researchers use the results of their work to produce a concrete plant with better properties? One of the largest problems in agriculture is the increasing contamination of the ground with salt since some salt is always left behind when the water supplied by permanent irrigation evaporates. It would thus be desirable to identify plants that can grow well despite a high level of salt in the ground. "Some 10 million hectares (25 million acres) of land are lost every year to salt contamination," according to Professor Dale Sanders's description of this immense problem. This surface area amounts to more than a quarter of the area of Germany! The goal of Sanders and his group is to cultivate plants that thrive in salty ground.

"We have discovered a membrane transport system that regulates the uptake of sodium ions in the cells in roots," he explains. Sodium is the more harmful partner in the duo of sodium chloride that makes up common salt. Professor Sanders and his research group now hope, with the support of the Körber Foundation, to clarify the molecular mechanisms that are involved. Once they are known, it may be possible to directly influence or even block sodium transport, in order to limit the uptake of sodium through the roots, making plants more resistant. ►

um hochaktive Kanäle für Kalium- und Chlorid-Ionen – beim Öffnen und Schließen der so genannten Spaltöffnungen im Blatt eine Rolle spielen. Durch diese Öffnungen verdunstet Wasser. Das ist notwendig, wenn im Blatt aus Kohlendioxid organische Substanzen wie Zucker und Eiweiße hergestellt werden sollen. Bei Wassermangel müssen diese Öffnungen jedoch geschlossen werden – ein Vorgang, den die an ausreichend Wasser „gewöhnten“ meisten Ackerpflanzen nicht gut genug beherrschen.

„Wir wollen Kulturpflanzen dazu bringen, durch Schließen ihrer Spaltöffnungen schneller auf Wassermangel zu reagieren als bisher“, formuliert Rainer Hedrich das Ziel. „Es gibt in der Natur Pflanzen, die derart reagieren und mit ungünstigen Wasserbedingungen umzugehen verstehen. Von solchen Überlebenskünstlern wollen wir lernen, indem wir deren Prinzipien abschauen.“ Ein weiteres Ziel von Hedrich und seinen Mitarbeitern ist es, die „Fernleitung“ von Stoffen wie Zuckern, Nährsalzen und Aminosäuren – das sind die Bausteine der Eiweiße – in der Pflanze besser zu verstehen, um sie beeinflussen zu können. Und schließlich wollen die Forscher auch die Mechanismen untersuchen, über die die Wurzel Nährsalze aus dem Boden aufnimmt. Dies ist auch einer der Schwerpunkte, die Professor Frommer und Professor Martinoia mit ihren Arbeitsgruppen verfolgen. Vor allem Ammonium, Aminosäuren, Nitrate und Phosphat, die bei der künstlichen Düngung auf den Boden gebracht werden, stehen dabei im Zentrum.

„Wenn man die Transporter kennt, kann man beispielsweise versuchen, die Transportleistung der Pflanzen zu erhöhen“, erläutert Frommer den Ansatz. Dazu müssen die entsprechenden Transportermoleküle zunächst identi-



*Wissensarbeit:
Forschung ist ein hartes Ringen,
bei dem Laborergebnisse und
Denkmodelle in Einklang
gebracht werden müssen.*

*Know-how:
Research is a hard struggle
in which the results of
experiments have to be
brought into harmony
with theoretical models*

fiziert werden. Ist das geschehen, hoffen die Forscher ihre Anzahl durch einen molekulargenetischen Eingriff steigern zu können. Die Folge: „Selbst bei geringen Phosphat- oder Stickstoff-Konzentrationen könnten die Transporter dann an der Pflanzenoberfläche arbeiten und die Substanzen besser aus dem Boden aufnehmen“, sagt Professor Frommer. Damit wäre die Gefahr geringer, dass Nitrate im Boden verbleiben und ins Grundwasser gespült werden. Ein weiterer Schwerpunkt von Professor Frommer und seinem Team betrifft die Verteilung und den Transport von Aminosäuren in Pflanzen. Durch Beeinflussung der entsprechenden Transportermoleküle hoffen sie, Pflanzen zu erhalten, deren Samen zum Beispiel einen größeren Anteil von essenziellen – für Mensch und viele Tiere lebenswichtigen – Aminosäuren enthalten. Ein Ziel, das auch Professor Sauer mit seinen Mitarbeitern verfolgt. „Pflanzen mit optimiertem Protein- und Aminosäuregehalt wären vor allem als Futterpflanzen für Tiere von

Von solchen Überlebungskünstlern wollen wir lernen, indem wir deren Prinzipien abschauen. We want to learn from such plants that have learned to survive under such circumstances by discovering how they work.

Bedeutung“, betont der Forscher. In der Vergangenheit wurde für diesen Zweck unter anderem Tiermehl verfüttert, eine für viele Tiere mehr als unnatürliche Eiweißquelle. Für die menschliche Ernährung wichtiger seien hingegen Pflanzen mit einem erhöhten Vitamingehalt – ein weiteres Züchtungsvorhaben.

Für die Verteilung von Eiweißen innerhalb der Pflanze spielt noch ein weiterer Transportweg eine wichtige Rolle, den Sauer und sein Team vor zwei Jahren erkannten. Proteine können nämlich auch durch schlauchartige Verbindungen – so genannten Plasmodesmata – von einer Zelle zur anderen transportiert werden. Zwar sind diese nur in Pflanzen vorkommenden Strukturen schon seit vielen Jahrzehnten bekannt, jedoch war die bisherige Lehrbuchmeinung, dass lediglich kleine Moleküle, zum ►

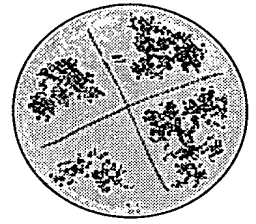
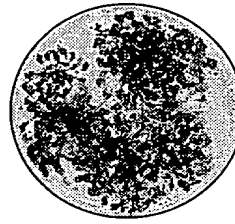
Heat and dryness are also harmful to green organisms. To help them overcome these obstacles is one of the tasks of Professor Rainer Hedrich and his team. These researchers have discovered that certain transporter molecules – namely highly active channels for potassium and chloride ions – play a role when a leaf opens and closes its so-called stoma. Water evaporates through these pores. This is necessary when organic substances such as sugar and proteins are supposed to be produced in a leaf out of carbon dioxide. These openings must be closed, however, if there is a water deficiency, and most agricultural plants, which are used to having sufficient water, cannot do this effectively.

“We want to bring cultivated plants to react faster to water deficiency than previously by closing their fissures,” as Rainer Hedrich formulates his goal. “In nature, there are plants that react this way and have learned to deal with unfavorable water conditions. We want to learn from such plants that have learned to survive under such circumstances by discovering how they work.” Another goal of Hedrich and his team is to better understand the distribution over long distances of substances such as sugar, nutrient salts, and amino acids, which are the modules proteins are made of, in order to be able to control this movement. And, finally, the researchers also want to examine the mechanisms by which the roots take up nutrient salts from the ground. This is also one of the major goals that Professor Frommer and Professor Martinoia and their groups are pursuing. At the center of their interest are ammonium, amino acids, nitrates, and phosphates, which enter the ground via artificial fertilizers.

“When you know the transporters, then you can, for example, try to improve the plant’s transportation capacity,” as Frommer describes his approach. First the respective transporter molecules have to be identified. When that is done, the researchers hope to increase the number of such molecules by means of molecular genetics. The result: “Even at low concentrations of phosphates or nitrogen, the transporters could work on the plant’s surface and take up the substances better from the ground,” according to Professor Frommer. This would lower the danger that nitrates would remain ►

Modellpflanze: Von Arabidopsis, der Ackerschmalwand, gewinnen die Forscher Mutanten, die in Petrischalen herangezogen werden und Vorreiter für die Züchtung neuer Nutzpflanzensorten sind.

Plant Models: Researchers gain mutants from Arabidopsis, which are grown in Petri dishes and are the precursors for the cultivation of new types of plants.



Beispiel Aminosäuren, Zucker oder Vitamine, durch diese „Poren“ wandern können.

„Wir kennen die verschiedenen Transportmechanismen inzwischen so gut, dass wir in die Pflanze zurückgehen und sie gezielt beeinflussen können“, resümiert Sauer den Stand der Forschung. Mit diesem Wissen könnte es zum Beispiel möglich werden, gezielt Proteine oder Vitamine in Kartoffelknollen einzuschleusen und so völlig neuartige Kartoffelsorten zu züchten. Auch sei eine Rapspflanze denkbar, deren speziell zusammengesetztes Öl ohne weitere chemische Aufbereitung als „Biodiesel“ verwendet werden könne. Doch eine Pflanze produziert nicht nur Zucker, Eiweiße, Fette und Vitamine, sondern auch ganz andere Stoffe. Aromastoffe zum Beispiel, die sie in einem speziellen Organ lagert – der Vakuole, einer großen, von einer Membran umgebenen Blase, die 80 bis 90 Prozent des Zellvolumens ausfüllt. „Zum Beispiel werden 99 Prozent der Inhaltsstoffe des Weines in der Vakuole gelagert“, berichtet Professor Dr. Enrico Martinoia, Spezialist für Membran-Transporter an diesem Organ. „Die Vakuole ist eine Art Abfallkübel der Zelle, aber auch ein temporärer Speicher“, erklärt der Forscher. Dort kann die Zelle zum Beispiel aufgenommene schädliche Substanzen deponieren und auf diese Weise unschädlich machen. Durch Manipulation der entsprechenden Transporter etwa sind Pflanzen denkbar, die giftige Schwermetalle aus dem Boden holen und in ihren Vakuolen sammeln. Auch Pestizide oder Herbizide lassen sich dort „entsorgen“. Daneben erzeugen Pflanzen aber auch selbst eine Vielzahl von Giften, um sich gegen Schädlinge zu verteidigen. Manche dieser Stoffe sind pharmazeutisch wirksame Substanzen, die in den Vakuolen lagern. Durch deren Beeinflussung, so lässt sich vorstellen, könnten sogar Kräuter mit neuen Wirkstoffen zur Herstellung von Medikamenten gezüchtet werden. Das allerdings sind noch ferne Zukunftsträume der Pflanzenzüchter, und auch die näher liegenden Ansätze werden noch einige Zeit brauchen, bis sie in der Praxis funktionieren.

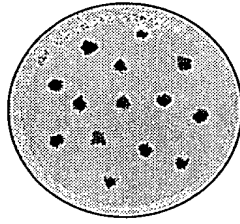
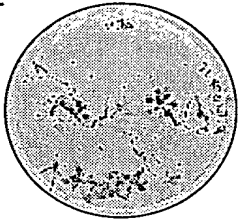
„Die meisten Kenntnisse über Transporter haben wir derzeit an Arabidopsis, der Ackerschmalwand, gewonnen“, erklärt Professor Frommer. Arabidopsis ist genetisch bestens be-

in the ground and enter the ground water. Another focus of the work by Professor Frommer and his team concerns the distribution and transport of amino acids in plants. By influencing the corresponding transporter molecules, they hope to find plants, for example, whose seeds contain a higher proportion of essential amino acids, which are vital for man and many animals. This is also a goal being pursued by Professor Sauer and his team. „Plants with optimized protein and amino acid contents would be of significance especially as forage plants for animals,“ as he emphasizes. In the past, feed containing animal products has been one of the foodstuffs given to animals, but this is a more than unnatural source of protein for many of them. More important for human consumption are, in contrast, plants with raised levels of vitamins, another goal of the researchers.

Another means of transportation plays an important role in the distribution of protein within the plant, which Sauer and his team recognized two years ago. Proteins can namely be transported from one cell to another by means of tubous links, so-called plasmodesmata. Although these structures, which only occur in plants, have been known for many decades, they were previously thought to be able to only transport small molecules, such as amino acids, sugars, and vitamins, through these pores.

„We now know the different transport mechanisms well enough that we can go back into the plant and influence it in a direct manner,“ as Sauer summarizes the current state of research. With this knowledge, it could be possible to add proteins or vitamins to potatoes, cultivate entirely new kinds of potatoes. It is also possible to imagine a rape plant whose oil could be used as a biodiesel fuel without undergoing any further chemical processing. Yet a plant produces very different substances, not only sugar, proteins, fats, and vitamins. Aromatic substances are an example; these are stored in a special organ, the vacuole, a larger bladder that is surrounded by a membrane and occupies 80-90% of the cell volume. „For example, 99% of the substance of wine are stored in the vacuole“, reports Professor Enrico Martinoia, a specialist for membrane transporters in this organ.

Heute können wir in die Pflanze zurückgehen und sie gezielt beeinflussen. We can go back into the plant and influence it in a direct manner.



kannt und damit so etwas wie das „Versuchskaninchen“ der Pflanzenphysiologen. Da jedoch die molekularen Mechanismen des Transportes an allen Pflanzen sehr ähnlich sind und mithilfe der Gentechnik Eigenschaften aus einer Pflanze in ein breites Spektrum von Nutzpflanzen übertragen werden können, sehen die Forscher keine prinzipiellen Probleme, ihre Erkenntnisse auch auf Erbsen, Bohnen, Zuckerrüben, Kartoffeln oder Getreide anzuwenden. „In etwa zwei bis drei Jahren könnte es möglich sein, die Salztoleranz bei Arabidopsis zu erreichen“, schätzt Professor Sanders. „Und in etwa fünf Jahren könnten wir dann vielleicht bei Gerste oder Weizen so weit sein.“ ■

“The vacuole is a kind of trash can in the cell, but also a temporary storage bin“, he explains. A cell can, for example, limit the harmful effect of any harmful substances it has absorbed by depositing them there. By manipulating the respective transporters, we can imagine plants that take up poisonous heavy metals from the ground and collect them in their vacuoles. The same could be done with pesticides or herbicides. Plants themselves produce a number of poisons to defend themselves against pests. Some of these substances contain pharmaceutically active components, which are stored in the vacuoles. By manipulating this, we can imagine developing herbs with new active substances for the production of medications. However, these are still distant dreams of plant growers, and it will even take some time until the more practicable approaches function in daily life.

“We have gained the most knowledge of transporters in Arabidopsis“, Professor Frommer explains. Arabidopsis is genetically very well known, a kind of guinea pig for plant physiologists. Yet since the molecular transport mechanisms are very similar in all plants, and since the properties can be transferred from one plant into a large spectrum of useful plants with genetic engineering, researchers do not anticipate any problems in principle in applying their knowledge to peas, beans, sugar beets, potatoes, or grain. In some two to three years, it could be possible to make Arabidopsis tolerate salt, according to Professor Sanders. “And in some five years we might have achieved this for barley or wheat.“ ■





①⑨ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 42 22 315 A 1**

⑤① Int. Cl.⁵:
C 12 N 15/29
C 12 N 15/79
C 12 N 15/63
C 12 P 19/34
C 12 N 1/19
A 01 H 1/00
G 01 N 33/50

②① Aktenzeichen: P 42 22 315.6
②② Anmeldetag: 5. 7. 92
④③ Offenlegungstag: 13. 1. 94

DE 42 22 315 A 1

⑦① Anmelder:

Institut für Genbiologische Forschung Berlin GmbH,
14195 Berlin, DE

⑦② Erfinder:

Frommer, Wolf-Bernd, Dr., 1000 Berlin, DE

Der Inhalt dieser Schrift weicht von den am Anmeldetag eingereichten Unterlagen ab

⑤④ DNA-Sequenzen für Aminosäuretransporter, Plasmide, Bakterien, Hefen und Pflanzen enthaltend einen Transporter

⑤⑦ Es werden DNA-Sequenzen, die die Kodierregion eines Aminosäuretransporters enthalten, deren Einführung in ein pflanzliches Genom eine Veränderung der Weiterleitung von Metaboliten in transgenen Pflanzen hervorruft sowie Plasmide, Bakterien, Hefe und Pflanzen enthaltend diese DNA-Sequenzen, beschrieben.

DE 42 22 315 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

BUNDESDRUCKEREI 11. 93 308 062/245

14/58

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft DNA-Sequenzen, die die Kodierregion eines Aminosäuretransporters enthalten, deren Einführung in ein pflanzliches Genom eine Veränderung der Weiterleitung von Metaboliten in transgenen Pflanzen hervorruft, sowie Plasmide, Bakterien, Hefen und Pflanzen enthaltend diese DNA-Sequenzen.

Für viele Pflanzenspezies liegen Hinweise vor, daß die Abgabe energiereicher Verbindungen an das Phloem durch die Zellwand der Zelle hindurch erfolgt. Transportermoleküle, die den Durchtritt von Aminosäuren durch die pflanzliche Zellwand ermöglichen, sind nicht bekannt.

Bei Bakterien sind zahlreiche Aminosäure-Transportsysteme charakterisiert. Für aromatische Aminosäuren sind fünf verschiedene Transporter beschrieben, von denen einer Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan transportiert, während die anderen spezifisch für einzelne Aminosäuren sind (s. Sarsero et al., 1991, J. Bacteriol 173: 3231—3234). Die Geschwindigkeitskonstanten des Transportvorgangs deuten an, daß der spezifische Transport weniger effizient erfolgt. Für mehrere Transporter-Proteine wurden die entsprechenden Gene kloniert. Dies wurde mit Hilfe transportdefizienter Mutanten erreicht, die nach Transformation mit DNA-Fragmenten als Insertionen in Expressionsvektoren auf die Transportfähigkeit hin selektiert wurden (s. Wallace et al., 1990, J. Bacteriol 172: 3214—3220). Die Mutanten wurden anhand ihrer Fähigkeit ausgewählt, in Gegenwart toxischer Analoga von Aminosäuren zu wachsen, da sie diese nicht aufnehmen können und daher nicht beeinträchtigt werden. Entsprechende Komplementationstudien wurden mit der eukaryontischen Hefe *Saccharomyces cerevisiae* durchgeführt. Tanaka & Fink (1985, Gene 38: 205—214) beschreiben einen Histidin-Transporter, der durch Komplementation einer Mutation identifiziert wurde. Vandenbol et al. (1989, Gene 83: 153—159) beschreiben einen Prolin-Transporter von *Saccharomyces cerevisiae*. Die Hefe besitzt zwei verschiedene Permeasen für Prolin. Eine transportiert mit niedriger Effizienz, kann aber auch andere Aminosäuren verwenden, die andere ist prolinpezifisch und arbeitet mit hoher Affinität. Letztere wird vom put4 Gen kodiert. Dieses trägt ein offenes Leseraster für ein Peptid mit dem Molekulargewicht 69 kDa. Das Protein enthält 12 membrandurchdringende Regionen, aber keine N-terminale Signalsequenz für Sekretion. Dies ist eine typische Eigenschaft von integralen Membranproteinen. Die Permease besitzt Homologie zur Arginin- und zur Histidin-Permease von Hefe, jedoch nicht zur Prolin-Permease von *Escherichia coli*.

Für pflanzliche Zellen wurde bei Studien an Tabak-Suspensionskulturen gefunden, daß der Transport von Arginin, Asparagin, Phenylalanin und Histidin pH- und energieabhängig ist. Da ein 1000facher Überschuß an Leucin den Transport der anderen Aminosäuren inhibiert, kann davon ausgegangen werden, daß alle den gleichen Transporter verwenden (McDaniel et al., 1982, Plant Physiol 69: 246—249). Li und Bush (1991, Plant Physiol 96: 1338—1344) ermittelten für aliphatische, neutrale Aminosäuren zwei Transportsysteme in Plasmamembranvesikeln von *Beta vulgaris*. Einerseits können Alanin, Methionin, Glutamin und Leucin einander am Transporter-Protein verdrängen, andererseits haben Isoleucin, Valin und Threonin kompetitive Effekte untereinander. Bei kombinierten Kompetitions- und kinetischen Studien (Li & Bush, 1990, Plant Physiol 94: (268—277) lassen sich vier verschiedene Transportsysteme unterscheiden. Neben einem Transporter für alle neutralen Aminosäuren, der mit niedriger Affinität arbeitet, existiert ein hochaffiner Typ, der jedoch geringe Affinität zu Isoleucin, Threonin, Valin und Prolin besitzt. Ferner existieren Transporter für saure sowie solche für basische Aminosäuren.

Die Transporter-Moleküle oder Gene für pflanzliche Transporter-Proteine sind nicht bekannt.

Es werden nun DNA-Sequenzen beschrieben, die die Kodierregion eines pflanzlichen Aminosäuretransporters enthalten, und deren in der Nukleotidabfolge enthaltene Information bei Integration in ein pflanzliches Genom die Bildung von Ribonukleinsäuren erlaubt, mit deren Hilfe eine neue Aminosäuretransporter-Aktivität in Pflanzenzellen eingeführt werden oder eine endogene Aminosäuretransporter-Aktivität unterdrückt werden kann.

Unter einem Aminosäuretransporter ist z. B. eine cDNA-Sequenz, die einen Aminosäuretransporter aus *Arabidopsis thaliana* kodiert zu verstehen.

Die Identifikation der Kodierregion des Aminosäuretransporters wird über ein Verfahren durchgeführt, das die Isolation von pflanzlichen DNA-Sequenzen, die Transporter Moleküle kodieren, mittels Expression in spezifischen Mutanten der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* erlaubt. Hierzu müssen geeignete Hefe-Mutanten verfügbar sein, die nicht in der Lage sind, eine Substanz aufzunehmen, für die aus einer pflanzlichen Genbank die Kodierregion eines Transporter-Moleküls isoliert werden soll.

Eine Mutante, die nicht in der Lage ist, in Medien mit Prolin als einziger Stickstoffquelle zu wachsen, wird von Jauniaux et al. (1987), Eur. J. Biochem. 164: 601—606) beschrieben.

Für die Herstellung von Hefestämmen, die der Identifikation pflanzlicher Aminosäuretransporter dienen, wird nun z. B. eine Hefemutante, die nicht in der Lage ist, in Medien mit Prolin als einziger Stickstoffquelle zu wachsen mit pFL 61-Plasmiden, die als Insertion cDNA Fragmente aus einer cDNA Bibliothek von *Arabidopsis thaliana* tragen, transformiert.

Es wurde nun überraschend gefunden, daß bei der Transformation der Hefezellen bestimmte pflanzliche cDNA Fragmente die Hefe-Mutation komplementieren können. Bei Analysen der Eigenschaften des von der cDNA kodierten Proteins kann ermittelt werden, daß für die Komplementation der Mutation eine Kodierregion verantwortlich ist, die einen pflanzlichen Aminosäuretransporter mit breitem Spezifitätsspektrum kodiert (s. Ausführungsbeispiel 3).

Eine derartige Kodierregion eines Aminosäuretransporters weist z. B. die folgende Nukleotidsequenz (Seq. ID No: 1) auf:

DE 42 22 315 A1

CTTAAACAT TTATTTTATC TTCTTCTTGT TCTCTCTTTC TCTTTCTCTC ATCACT	56	
ATG AAG AGT TTC AAC ACA GAA GGA CAC AAC CAC TCC ACG GCG GAA	101	
Met Lys Ser Phe Asn Thr Glu Gly His Asn His Ser Thr Ala Glu		
1 5 10 15		5
TCC GGC GAT GCC TAC ACC GTG TCG GAC CCG ACA AAG AAC GTC GAT	146	
Ser Gly Asp Ala Tyr Thr Val Ser Asp Pro Thr Lys Asn Val Asp		
20 25 30		
GAA GAT GGT CGA GAG AAG CGT ACC GGG ACG TGG CTT ACG GCG AGT	191	
Glu Asp Gly Arg Glu Lys Arg Thr Gly Thr Trp Leu Thr Ala Ser		10
35 40 45		
GCG CAT ATT ATC ACG GCG GTG ATA GGC TCC GGA GTG TTG TCT TTA	236	
Ala His Ile Ile Thr Ala Val Ile Gly Ser Gly Val Leu Ser Leu		
50 55 60		
GCA TGG GCT ATA GCT CAG CTT GGT TGG ATC GCA GGG ACA TCG ATC	281	15
Ala Trp Ala Ile Ala Gln Leu Gly Trp Ile Ala Gly Thr Ser Ile		
65 70 75		
TTA CTC ATT TTC TCG TTC ATT ACT TAC TTC ACC TCC ACC ATG CTT	326	
Leu Leu Ile Phe Ser Phe Ile Thr Tyr Phe Thr Ser Thr Met Leu		
80 85 90		20
GCC GAT TGC TAC CGT GCG CCG GAT CCC GTC ACC GGA AAA CGG AAT	371	
Ala Asp Cys Tyr Arg Ala Pro Asp Pro Val Thr Gly Lys Arg Asn		
95 100 105		
TAC ACT TAC ATG GAC GTT GTT CGA TCT TAC CTC GGT GGT AGG AAA	416	
Tyr Thr Tyr Met Asp Val Val Arg Ser Tyr Leu Gly Gly Arg Lys		25
110 115 120		
GTG CAG CTC TGT GGA GTG GCA CAA TAT GGG AAT CTG ATT GGG GTC	461	
Val Gln Leu Cys Gly Val Ala Gln Tyr Gly Asn Leu Ile Gly Val		
125 130 135		
ACT GTT GGT TAC ACC ATC ACT GCT TCT ATT AGT TTG GTA GCG GTA	506	30
Thr Val Gly Tyr Thr Ile Thr Ala Ser Ile Ser Leu Val Ala Val		
140 145 150		
GGG AAA TCG AAC TGC TTC CAC GAT AAA GGG CAC ACT GCG GAT TGT	551	
Gly Lys Ser Asn Cys Phe His Asp Lys Gly His Thr Ala Asp Cys		
155 160 165		35
ACT ATA TCG AAT TAT CCG TAT ATG GCG GTT TTT GGT ATC ATT CAA	596	
Thr Ile Ser Asn Tyr Pro Tyr Met Ala Val Phe Gly Ile Ile Gln		
170 175 180		
		40
		45
		50
		55
		60
		65

DE 42 22 315 A1

	GTT ATT CTT AGC CAG ATC CCA AAT TTC CAC AAG CTC TCT TTT CTT	641
	Val Ile Leu Ser Gln Ile Pro Asn Phe His Lys Leu Ser Phe Leu	
	185 190 195	
5	TCC ATT ATG GCC GCA GTC ATG TCC TTT ACT TAT GCA ACT ATT GGA	686
	Ser Ile Met Ala Ala Val Met Ser Phe Thr Tyr Ala Thr Ile Gly	
	200 205 210	
	ATC GGT CTA GCC ATC GCA ACC GTC GCA GGT GGG AAA GTG GGT AAG	731
	Ile Gly Leu Ala Ile Ala Thr Val Ala Gly Gly Lys Val Gly Lys	
	215 220 225	
10	ACG AGT ATG ACG GGC ACA GCG GTT GGA GTA GAT GTA ACC GCA GCT	776
	Thr Ser Met Thr Gly Thr Ala Val Gly Val Asp Val Thr Ala Ala	
	230 235 240	
	CAA AAG ATA TGG AGA TCG TTT CAA GCG GTT GGG GAC ATA GCG TTC	821
	Gln Lys Ile Trp Arg Ser Phe Gln Ala Val Gly Asp Ile Ala Phe	
15	245 250 255	
	GCC TAT GCT TAT GCC ACG GTT CTC ATC GAG ATT CAG GAT ACA CTA	866
	Ala Tyr Ala Tyr Ala Thr Val Leu Ile Glu Ile Gln Asp Thr Leu	
	260 265 270	
20	AGA TCT AGC CCA GCT GAG AAC AAA GCC ATG AAA AGA GCA AGT CTT	911
	Arg Ser Ser Pro Ala Glu Asn Lys Ala Met Lys Arg Ala Ser Leu	
	275 280 285	
	GTG GGA GTA TCA ACC ACC ACT TTT TTC TAC ATC TTA TGT GGA TGC	956
	Val Gly Val Ser Thr Thr Thr Phe Phe Tyr Ile Leu Cys Gly Cys	
	290 295 300	
25	ATC GGC TAT GCT GCA TTT GGA AAC AAT GCC CCT GGA GAT TTC CTC	1001
	Ile Gly Tyr Ala Ala Phe Gly Asn Asn Ala Pro Gly Asp Phe Leu	
	305 310 315	
	ACA GAT TTC GGG TTT TTC GAG CCC TTT TGG CTC ATT GAC TTT GCA	1046
	Thr Asp Phe Gly Phe Phe Glu Pro Phe Trp Leu Ile Asp Phe Ala	
30	320 325 330	
	AAC GCT TGC ATC GCT GTC CAC CTT ATT GGT GCC TAT CAG GTG TTC	1091
	Asn Ala Cys Ile Ala Val His Leu Ile Gly Ala Tyr Gln Val Phe	
	335 340 345	
35	GCG CAG CCG ATA TTC CAG TTT GTT GAG AAA AAA TGC AAC AGA AAC	1136
	Ala Gln Pro Ile Phe Gln Phe Val Glu Lys Lys Cys Asn Arg Asn	
	350 355 360	
	TAT CCA GAC AAC AAG TTC ATC ACT TCT GAA TAT TCA GTA AAC GTA	1181
	Tyr Pro Asp Asn Lys Phe Ile Thr Ser Glu Tyr Ser Val Asn Val	
	365 370 375	
40	CCT TTC CTT GGA AAA TTC AAC ATT AGC CTC TTC AGA TTG GTG TGG	1226
	Pro Phe Leu Gly Lys Phe Asn Ile Ser Leu Phe Arg Leu Val Trp	
	380 385 390	
	AGG ACA GCT TAT GTG GTT ATA ACC ACT GTT GTA GCT ATG ATA TTC	1271
	Arg Thr Ala Tyr Val Val Ile Thr Thr Val Val Ala Met Ile Phe	
45	395 400 405	
	CCT TTC TTC AAC GCG ATC TTA GGT CTT ATC GGA GCA GCT TCC TTC	1316
	Pro Phe Phe Asn Ala Ile Leu Gly Leu Ile Gly Ala Ala Ser Phe	
	410 415 420	
50	TGG CCT TTA ACG GTT TAT TTC CCT GTG GAG ATG CAC ATT GCA CAA	1361
	Trp Pro Leu Thr Val Tyr Phe Pro Val Glu Met His Ile Ala Gln	
	425 430 435	

55

60

65

```

ACC AAG ATT AAG AAG TAC TCT GCT AGA TGG ATT GCG CTG AAA ACG      1406
Thr Lys Ile Lys Lys Tyr Ser Ala Arg Trp Ile Ala Leu Lys Thr
                                440                      450
ATG TGC TAT GTT TGC TTG ATC GTC TCG CTC TTA GCT GCA GCC GGA      1451
Met Cys Tyr Val Cys Leu Ile Val Ser Leu Leu Ala Ala Ala Gly      5
                                455                      460                      465
TCC ATC GCA GGA CTT ATA AGT AGT GTC AAA ACC TAC AAG CCC TTC      1496
Ser Ile Ala Gly Leu Ile Ser Ser Val Lys Thr Tyr Lys Pro Phe
                                470                      475                      480
CGG ACT ATG CAT GAG TGAGTTTGAG ATCCTCAAGA GAGTCAAAAA TATATGTAGT  1551  10
Arg Thr Met His Glu
                                485
AGTTTGGTCT TTCTGTAACT CTATCTGGTG TCTAAATCCA ATGAGAATGC TTTATTGCTA 1611

AAACTTCATG AATCTCTCTG TATCTACATC TTTCAATCTA ATACATATGA GCTCTTCCAA 1671  15

AAAAAAAAAAAA AAAA 1685

```

Die mit Hilfe der transformierten Hefestämme identifizierten erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen, wie z. B. die Sequenz Seq. ID No: 1, können in Plasmide eingebracht und dabei mit Steuerelementen für Expression in eukaryontischen Zellen kombiniert werden (s. Ausführungsbeispiel 4). Derartige Steuerelemente sind einerseits Transkriptions-Promotoren und andererseits Transkriptions-Terminatoren. Mit den Plasmiden können eukaryontische Zellen transformiert werden mit dem Ziel der Expression einer translatierbaren mRNA, die die Synthese eines Aminosäuretransporters in den Zellen ermöglicht, oder mit dem Ziel der Expression einer nicht-translatierbaren RNA, die die Synthese eines endogenen Aminosäuretransporters verhindert. Durch Expression einer RNA entsprechend der erfindungsgemäßen Sequenz eines pflanzlichen Aminosäuretransporters ist eine Veränderung sowohl des pflanzlichen Aminosäure- als auch des gesamten Stickstoffmetabolismus möglich, deren wirtschaftliche Bedeutung offensichtlich ist: Stickstoff ist der hauptsächlich das Wachstum begrenzende Nährstoff. Die Lebensfähigkeit von Keimlingen sowie die Keimungsfähigkeit von Samen ist direkt abhängig vom Stickstoffgehalt der Speichergewebe. Die Bildung von hochwertigen, stark proteinhaltigen Nahrungsmitteln ist von einer ausreichenden Stickstoffzufuhr abhängig. Stickstoff wird im wesentlichen in Form von Aminosäuren transportiert. Die Verbesserung der Weiterleitung von Aminosäuren an Ernteteile kann daher zu einer Ertragssteigerung von Nutzpflanzen führen. Die Möglichkeit der Unterdrückung von Aminosäureaufnahme in einzelne Organe erlaubt die qualitative Verbesserung von solchen Organen, die wegen der Anforderungen der Verwertungsprozesse wenig Stickstoff enthalten sollen, beispielsweise von Kartoffeln, die zur Produktion von Stärke angebaut werden. Darüberhinaus können Veränderung der Gestalt einer Pflanze vorgenommen werden, indem das Wachstum einzelner Gewebe verlangsamt wird — beispielsweise von Blüten, während das Wachstum von Ernteteilen begünstigt wird. Hierbei ist an eine Verlängerung der Vegetationsphase von Kulturpflanzen zu denken, die zu einer vermehrten Bildung von Speicherstoffen führt. Es sind bereits Verfahren zur genetischen Modifikation dikotyler und monokotyler Pflanzen bekannt (vgl. u. a. Gasser, C.S., Fraley, R.T., 1989, *Science* 244: 1293—1299; Potrykus, 1991, *Ann Rev Plant Mol Biol Plant Physiol* 42: 205—225). Zur Expression der kodierenden Sequenzen in Pflanzen müssen diese mit transkriptionell regulatorischen Elementen verknüpft werden. Solche Elemente, Promotoren genannt, sind vielfältig beschrieben (s. z. B. EP 375 091). Ferner müssen die Kodierregionen mit einem Transkriptionsterminationssignal versehen werden, damit sie korrekt transkribiert werden können. Derartige Elemente sind ebenfalls beschrieben (vgl. Gielen et al., 1989, *EMBO J* 8: 23—29). Der transkriptionelle Startbereich kann sowohl nativ bzw. homolog als auch fremdartig bzw. heterolog zur Wirtspflanze sein. Terminationsbereiche sind gegeneinander beliebig austauschbar. Die DNA-Sequenz der Transkriptionsstart- und -terminationsregionen kann synthetisch hergestellt oder natürlich gewonnen sein oder eine Mischung aus synthetischen und natürlichen DNA-Bestandteilen enthalten. Zur Vorbereitung der Einführung fremder Gene in höhere Pflanzen sind eine große Anzahl Klonierungsvektoren verfügbar, die ein Replikationssignal für *E. coli* und einen Marker beinhalten, der eine Selektion der transformierten Zellen erlaubt. Beispiele für Vektoren sind pBR 322, pUC-Serien, M13 mp-Serien, pACYC 184 usw. Je nach Einführungsmethode gewünschter Gene in die Pflanze können weitere DNA-Sequenzen erforderlich sein. Werden z. B. für die Transformation der Pflanzenzelle das Ti- oder Ri-Plasmid verwendet, so muß mindestens die rechte Begrenzung, häufig jedoch die rechte und die linke Begrenzung der Ti- und Ri-Plasmid T-DNA, als Flankenbereich den einzuführenden Genen angefügt werden. Die Verwendung von T-DNA für die Transformation von Pflanzenzellen ist intensiv untersucht und ausreichend in EP 120 516; Hoekema, In: *The Binary Plant Vektor System*, Offset-drukkerij Kanters B.V. Alblasserdam, (1985), Chapter V; Fraley, et al., *Crit. Rev. Plant Sci.*, 4: 1—46 und An et al. (1985) *EMBO J.* 4: 277—287 beschrieben worden. Ist die eingeführte DNA einmal im Genom integriert, so ist sie dort in der Regel stabil und bleibt auch in den Nachkommen der ursprünglich transformierten Zelle erhalten. Sie enthält normalerweise einen Selektionsmarker, der den transformierten Pflanzenzellen Resistenz gegenüber einem Biozid oder einem Antibiotikum wie Kanamycin, G 418, Bleomycin, Hygromycin oder Phosphinotricin u. a. vermittelt. Der individuell verwendete Marker sollte daher die Selektion transformierter Zellen gegenüber Zellen, denen die eingefügte DNA fehlt, gestatten.

Für die Einführung von DNA in eine pflanzliche Wirtszelle stehen neben der Transformation mit Hilfe von Agrobakterien viele andere Techniken zur Verfügung. Diese Techniken umfassen die Fusion von Protoplasten, die Mikroinjektion von DNA, die Elektroporation sowie ballistische Methoden und Virusinfektion. Aus dem

transformierten Pflanzenmaterial können dann in einem geeigneten Medium, welches Antibiotika oder Biozide zur Selektion enthalten kann, wieder ganze Pflanzen regeneriert werden. Die so erhaltenen Pflanzen können dann auf Anwesenheit der eingeführten DNA getestet werden. Bei der Injektion und Elektroporation sind an sich keine speziellen Anforderungen an die Plasmide gestellt. Es können einfache Plasmide wie z. B. pUC-Derivate verwendet werden. Sollen aber aus derartig transformierten Zellen ganze Pflanzen regeneriert werden, ist die Anwesenheit eines selektierbaren Markergens notwendig. Die transformierten Zellen wachsen innerhalb der Pflanzen in der üblichen Weise (siehe auch McCormick et al. (1986) *Plant Cell Reports* 5: 81—84). Diese Pflanzen können normal angezogen werden und mit Pflanzen, die die gleiche transformierte Erbanlage oder andere Erbanlagen besitzen, gekreuzt werden. Die daraus entstehenden hybriden Individuen haben die entsprechenden phänotypischen Eigenschaften.

Die erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen können in Plasmide eingebracht und dabei mit Steuerelementen für eine Expression in prokaryontischen Zellen kombiniert werden. Die Bildung einer von Bakterien translatierbaren RNA Sequenz eines eukaryontischen Aminosäuretransporters führt trotz der erheblichen Unterschiede in den Membranstrukturen von Pro- und Eukaryonten überraschend dazu, daß Prokaryonten nun einen eukaryontischen Aminosäuretransporter mit dessen Spezifität für bestimmte Substrate verwenden. Dies ermöglicht die Produktion von Bakterienstämmen, die für Studien der Eigenschaften des Transporters sowie seiner Substrate genutzt werden können. Die erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen können in Plasmide eingebracht werden, die eine Mutagenese oder eine Sequenzveränderung durch Rekombination von DNA-Sequenzen in prokaryontischen oder eukaryontischen Systemen erlauben. Dadurch kann die Spezifität des Transporters verändert werden. Durch Veränderung der Spezifität des Aminosäure-Transport-Systems ist der Transport neuer Verbindungen in eukaryontische oder aber in prokaryontische Zellen möglich, die weitere interessante Möglichkeiten erschließt. Beispielsweise kann im Falle von pflanzlichen Zellen ebenso an den Transport von Pestiziden wie auch von Substraten für Stoffwechselreaktionen der Pflanze gedacht werden. Mit Hilfe von Standardverfahren (vgl. Sambrook et al., 1989, *Molecular cloning: A laboratory manual*, 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, USA) können Basenaustausche vorgenommen oder natürliche oder synthetische Sequenzen hinzugefügt werden. Für die Verbindung der DNA-Fragmente untereinander können an die Fragmente Adaptoren oder linker angesetzt werden. Ferner können Manipulationen, die passende Restriktionsschnittstellen bereitstellen oder die überflüssige DNA oder Restriktionsschnittstellen entfernen, eingesetzt werden. Wo Insertionen, Deletionen oder Substitutionen wie z. B. Transitionen und Transversionen in Frage kommen, können in vitro-Mutagenese, "primerrepair", Restriktion oder Ligation verwendet werden. Als Analysemethoden werden im allgemeinen eine Sequenzanalyse, eine Restriktionsanalyse und weitere biochemisch-molekularbiologische Methoden durchgeführt. Nach jeder Manipulation kann die verwendete DNA-Sequenz gespalten und mit einer anderen DNA-Sequenz verbunden werden. Jede Plasmid-Sequenz kann in den gleichen oder anderen Plasmiden kloniert werden.

Ferner können die erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen dazu genutzt werden, nach Standard-Verfahren aus dem Genom von Pflanzen verschiedener Spezies ähnliche Sequenzen zu isolieren, die ebenfalls Aminosäure- und andere Transportermoleküle kodieren. Mit diesen Sequenzen können Konstruktionen zur Transformation von Pflanzenzellen hergestellt werden, die Transportvorgänge in den transgenen Pflanzen verändern.

Um verwandte DNA-Sequenzen zu bestimmen, muß man zunächst Genbanken anlegen, die für den Gehalt von Genen einer Pflanzenart oder für die Expression von Genen in einer Pflanzenart repräsentativ sind. Erstere sind genomische, letztere sind cDNA-Banken. Aus diesen können mit Hilfe der erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen als Sonde verwandte Sequenzen isoliert werden. Hat man die dazugehörigen Gene identifiziert und isoliert, ist eine Bestimmung der Sequenz und eine Analyse der Eigenschaften der von dieser Sequenz kodierten Proteine erforderlich.

Die phänotypischen Auswirkungen der Transformation von Pflanzenzellen mit Sequenzen, die einen Aminosäuretransporter kodieren, oder Sequenzen, die die Expression eines endogenen Transporters unterbinden, sind in den Ausführungsbeispielen beschrieben.

Zum besseren Verständnis der dieser Erfindung zugrundeliegenden Ausführungsbeispiele werden die wichtigsten eingesetzten Verfahren im folgenden erläutert.

1. Klonierungsverfahren

Zur Klonierung in *E. coli* wurden der Vektor pBluescriptSK (Short et al., 1988, *Nucl Acids Res* 16: 7583—7600) verwendet.

Für die Transformation von Hefen wurde der Vektor pFL61 verwendet (Minet & Lacroute, 1990, *Curr Genet* 18: 287—291).

Für die Pflanzentransformation wurden die Genkonstruktionen in den binären Vektor pBIN-Hyg kloniert.

2. Bakterien- und Hefestämme

Für den pBluescriptSK Vektor sowie für pBinAR-Konstrukte wurde der *E. coli*-Stamm XL1blue (Bullock et al., 1987, *Biotechniques*, 5, 376—378) verwendet.

Als Ausgangsstamm für die Expression der cDNA-Bibliothek in Hefe wurde der Hefestamm 22574d (Jauniaux et al., 1987, *Eur. J. Biochem.* 164: 601—606) verwendet.

Die Transformation der Plasmide in die Kartoffelpflanze wurde mit Hilfe des *Agrobacterium tumefaciens*-Stammes LBA4404 (Bevan (1984) *Nucl. Acids Res* 12: 8711—8720) durchgeführt.

3. Transformation von *Agrobacterium tumefaciens*

Der Transfer der DNA in die Agrobakterien erfolgt durch direkte Transformation nach der Methode von Höfgen & Willmitzer (1988, Nucleic Acids Res 16: 9877). Die Plasmid-DNA transformierter Agrobakterien wurde nach der Methode von Birnboim & Doly (1979, Nucl Acids Res 7: 1513–1523) isoliert und nach geeigneter Restriktionsspaltung gelelektrophoretisch analysiert.

4. Pflanzentransformation

Zehn kleine, mit einem Skalpell verwundete Blätter einer Kartoffel-Sterilkultur wurden in 10 ml MS-Medium mit 2% Saccharose gelegt, welches 30–50 µl einer unter Selektion gewachsenen *Agrobacterium tumefaciens*-Übernachtskultur enthielt. Nach 3–5 minütigem, leichtem Schütteln wurden die Blätter auf MS-Medium mit 1,6% Glukose, 2 mg/l Zeatinriboside, 0,02 mg/l Naphthylelessigsäure, 0,02 mg/l Giberellinsäure, 500 mg/l Claforan, 50 mg/l Kanamycin und 0,8% Bacto Agar ausgelegt. Nach einwöchiger Inkubation bei 25°C und 3000 Lux wurde die Claforankonzentration im Medium um die Hälfte reduziert.

Hinterlegungen

Am 12. 06. 1992 wurden bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen (DSMZ) in Braunschweig, Bundesrepublik Deutschland, folgende Plasmide hinterlegt (Hinterlegungsnummer):

Plasmid pPPP1-20 (DSM 7129)

Plasmid pBinPPP1-20 (DSM 7130)

Beschreibung der Abbildungen

Fig. 1 zeigt das Plasmid pPPP1-20

Die fein gezogene Linie entspricht der Sequenz von pBluescriptSK. Die starke Linie repräsentiert die cDNA Insertion. Schnittstellen der Insertion sind angegeben.

Fig. 2 zeigt die Aufnahme von ¹⁴C-Prolin aus dem Medium

no = Zeitverlauf der Aufnahme ohne Kompetitor

proline = Zeitverlauf bei vierfachem Überschuß an unmarkiertem Prolin

citrullin = Zeitverlauf bei vierfachem Überschuß an Citrullin

GABA = Zeitverlauf bei vierfachem Überschuß an Gamma-Amino-Buttersäure

time = Zeit in Sekunden

cpm = gezählte Zerfälle pro Minute.

Die nachfolgenden Ausführungsbeispiele beschreiben die Klonierung und Identifikation sowie die Funktion und Verwendung eines pflanzlichen Aminosäuretransporters.

Ausführungsbeispiel 1

Klonierung der cDNA eines pflanzlichen Aminosäuretransporters

Zur Komplementation der Prolin-Transportmutation des Hefestamms 22574d (Jauniaux et al., 1987, Eur. J. Biochem 164: 601–606) wurde eine cDNA von jungen Keimlingen von *Arabidopsis thaliana* (Zwei-Blatt-Stadium) im Hefe-Expressionsvektor pFL61 (Minet & Lacroute, 1990, Curr Genet 18: 287–291) verwendet, die von M. Minet zur Verfügung gestellt wurde (Minet et al., 1992, Plant J 2: 417–422). Etwa 1 µg des Vektors mit der cDNA-Insertion wurden in den Hefestamm 22574d transformiert nach der Methode von Dohmen et al. (1991, Yeast 7: 691–692). Hefetransformatanten, die in Medien mit 4 mM Prolin als einziger Stickstoffquelle wachsen konnten, wurden propagiert. Aus den Linien wurde Plasmid-DNA nach Standardverfahren präpariert. Klone, die die Mutation komplementieren konnten, enthielten Plasmide mit ähnlichem Restriktionsmuster der cDNA-Insertion. Diese variierte in der Größe zwischen 1.6 und 1.7 kb.

Ausführungsbeispiel 2

Sequenzanalyse der cDNA-Insertion des Plasmids pFL61-ppp1-20

Aus einer entsprechend Ausführungsbeispiel 1 erhaltenen Hefe-Linie PPP1-20, die trotz der 22574d-Mutation mit Prolin als einziger Stickstoffquelle wachsen kann, wurde das Plasmid pFL61-ppp1-20 isoliert und seine cDNA-Insertion als NotI Fragment präpariert und in den Vektor pBluescriptSK umklont. Dabei wurde das Plasmid pPPP1-20 erhalten (s. Fig. 1). Mit Hilfe synthetischer Oligonukleotide wurde die Insertion nach der Methode von Sanger et al. (1977, Proc Natl Acad Sci USA 74: 5463–5467) sequenziert. Die Sequenz ist oben wiedergegeben.

Ausführungsbeispiel 3

Aufnahmestudien mit ^{14}C -markiertem Prolin an der Hefe-Linie PPP1-20

Die Hefe-Linie PPP1-20, die entsprechend Ausführungsbeispiel 1 erhalten wurde, wurde in Flüssigmedium angezogen, bis die Kultur die logarithmische Phase erreicht hatte. Nach Zentrifugation der Kultur wurden die Zellen in Medium mit ^{14}C -markiertem Prolin aufgenommen. Die Aufnahme der markierten Aminosäure wurde nach dem von Cirillo (1989, Meth Enzymol 174: 617–622) beschriebenen Verfahren gemessen. Die Aufnahme der markierten Aminosäure wurde derjenigen bei Koinkubation mit der proteinmodifizierenden Substanz Diethylpyrrocarbonat, die ein Inhibitor des Aminosäuretransports bei Membranvesikeln von *Beta vulgaris* ist, verglichen, sowie derjenigen bei Koinkubation mit weiteren proteinmodifizierenden Substanzen. Die berechnete Reduktion ist in Tabelle I aufgeführt. Ein Kompetitionsexperiment mit verschiedenen Aminosäuren und Analoga, an dem die Spezifität des Transporters abgelesen werden kann, ist in der Tabelle II aufgeführt. Der Zeitverlauf ist in Fig. 2 dargestellt.

Ausführungsbeispiel 4

Transformation von Pflanzen mit einer Konstruktion zur Überexpression der Kodierregion des Aminosäuretransporters

Aus dem Plasmid pPPP1-20, das als Insertion die cDNA für den Aminosäuretransporter aus *Arabidopsis* enthält, wurde ein internes Fragment der Insertion nach BamHI-Schnitt isoliert und in die BamHI Schnittstelle von pAJ kloniert, der zuvor mit dem Enzym BamHI linearisiert worden war. Anschließend wurde die cDNA als EcoRI/HindIII Fragment aus pA7 präpariert und in den Vektor pBIN-HYG kloniert. Nach Transformation von Agrobakterien wurden diese zur Infektion von Blattsegmenten von Tabak und Kartoffel eingesetzt.

Zehn unabhängig erhaltene Transformanten, in denen die Präsenz des intakten, nicht rearrangierten chimären Gens mit Hilfe von Southern blot Analysen nachgewiesen worden war, wurden bezüglich der Veränderungen von Aminosäure- und Stickstoffgehalt untersucht. Desweiteren wurden Aminosäurezusammensetzung, Photosyntheserate und Transpiration untersucht.

Tabelle I

Inhibition des Aminosäuretransports durch proteinmodifizierende Substanzen

	% vom Transport ohne Inhibitor
1 mM DEPC (Di-Ethyl-Pyro-Carbonat)	65
10 μM CCP (Carbonyl-cyanid-m-chlorphenylhydrazon)	63
10 μM 2,4 DNP (Di-Nitro-Phenol)	16
1 mM Natrium-Arsenat	35
10 μM Antimycin A	29
500 μM PCMB (Parachlormercuribenzenzolsulfonsäure)	78

Tabelle II

Kompetition durch einfachen, vierfachen und zehnfachen Überschuß an Aminosäuren und Analoga

Überschuß:	1 x	4 x	10 x	5
% verbleibender				
Transportaktivität:				
Glutaminsäure	64	27	30	10
Asparaginsäure	78		27	
Lysin	86		83	
Histidin	81	79	58	15
Arginin	85	88	74	
Threonin	-	50	-	
L - Prolin	49	21	14	20
D - -Prolin	98		95	
3,4 DH Prolin	86		49	
Azetidin-2-Carboxyl	91		48	25
OH - Prolin	81		45	
Valin	-	77	47	
Isoleuzin	-	67	-	30
Asparagin	64		57	
Glutamin	-	27	-	
Serin	53		18	35
Cystein	-	21	-	
Methionin	28		8	
Glycin	69		16	40
Alanin	55	29	23	
Leuzin	-		-	
Tyrosin	-		-	45
Tryptophan	82	71	48	
Phenylalanin	45		16	
Citrullin		44		50
Gamma-Amino-Buttersäure		90		

55

60

65

SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 1
ART DER SEQUENZ: Nucleiotid mit	SEQUENCE TYPE: Nucleotide with
entsprechendem Protein	corresponding protein
SEQUENZLÄNGE: 1685 Basenpaare	SEQUENCE LENGTH: 1685 base pairs
STRANGFORM: Einzelstrang	STRANDEDNESS: single
TOPOLOGIE: linear	TOPOLOGY: linear
ART DES MOLEKÜLS: cDNA	MOLECULE TYPE: cDNA
URSPRÜNGLICHE HERKUNFT	ORIGINAL SOURCE
ORGANISMUS: Arabidopsis thaliana	ORGANISM: Arabidopsis thaliana
HERKUNFT: cDNA Bibliothek im	IMMEDIATE EXPERIMENTAL SOURCE:
Plasmid pFL61	cDNA library in plasmid pFL61
MERKMALE:	FEATURES:
von 57 bis 1511 Kodierregion	from 57 to 1511 coding region
EIGENSCHAFTEN: Aminosäure-	PROPERTIES: aminoacid-transporter
Transporter	
CTTAAAACAT TTATTTTATC TTCTTCTTGT TCTCTCTTC TCTTTCTCTC ATCACT	56
ATG AAG AGT TTC AAC ACA GAA GGA CAC AAC CAC TCC ACG GCG GAA	101
Met Lys Ser Phe Asn Thr Glu Gly His Asn His Ser Thr Ala Glu	
1 5 10 15	
TCC GGC GAT GCC TAC ACC GTG TCG GAC CCG ACA AAG AAC GTC GAT	146
Ser Gly Asp Ala Tyr Thr Val Ser Asp Pro Thr Lys Asn Val Asp	
20 25 30	
GAA GAT GGT CGA GAG AAG CGT ACC GGG ACG TGG CTT ACG GCG AGT	191
Glu Asp Gly Arg Glu Lys Arg Thr Gly Thr Trp Leu Thr Ala Ser	
35 40 45	
GCG CAT ATT ATC ACG GCG GTG ATA GGC TCC GGA GTG TTG TCT TTA	236
Ala His Ile Ile Thr Ala Val Ile Gly Ser Gly Val Leu Ser Leu	
50 55 60	
GCA TGG GCT ATA GCT CAG CTT GGT TGG ATC GCA GGG ACA TCG ATC	281
Ala Trp Ala Ile Ala Gln Leu Gly Trp Ile Ala Gly Thr Ser Ile	
65 70 75	
TTA CTC ATT TTC TCG TTC ATT ACT TAC TTC ACC TCC ACC ATG CTT	326
Leu Leu Ile Phe Ser Phe Ile Thr Tyr Phe Thr Ser Thr Met Leu	
80 85 90	
GCC GAT TGC TAC CGT GCG CCG GAT CCC GTC ACC GGA AAA CGG AAT	371
Ala Asp Cys Tyr Arg Ala Pro Asp Pro Val Thr Gly Lys Arg Asn	
95 100 105	
TAC ACT TAC ATG GAC GTT GTT CGA TCT TAC CTC GGT GGT AGG AAA	416
Tyr Thr Tyr Met Asp Val Val Arg Ser Tyr Leu Gly Gly Arg Lys	
110 115 120	
GTG CAG CTC TGT GGA GTG GCA CAA TAT GGG AAT CTG ATT GGG GTC	461
Val Gln Leu Cys Gly Val Ala Gln Tyr Gly Asn Leu Ile Gly Val	
125 130 135	
ACT GTT GGT TAC ACC ATC ACT GCT TCT ATT AGT TTG GTA GCG GTA	506
Thr Val Gly Tyr Thr Ile Thr Ala Ser Ile Ser Leu Val Ala Val	
140 145 150	
GGG AAA TCG AAC TGC TTC CAC GAT AAA GGG CAC ACT GCG GAT TGT	551
Gly Lys Ser Asn Cys Phe His Asp Lys Gly His Thr Ala Asp Cys	
155 160 165	

60

65

DE 42 22 315 A1

ACT	ATA	TCG	AAT	TAT	CCG	TAT	ATG	GCG	GTT	TTT	GGT	ATC	ATT	CAA	596	
Thr	Ile	Ser	Asn	Tyr	Pro	Tyr	Met	Ala	Val	Phe	Gly	Ile	Ile	Gln		
				170					175					180		
GTT	ATT	CTT	AGC	CAG	ATC	CCA	AAT	TTC	CAC	AAG	CTC	TCT	TTT	CTT	641	5
Val	Ile	Leu	Ser	Gln	Ile	Pro	Asn	Phe	His	Lys	Leu	Ser	Phe	Leu		
				185					190					195		
TCC	ATT	ATG	GCC	GCA	GTC	ATG	TCC	TTT	ACT	TAT	GCA	ACT	ATT	GGA	686	
Ser	Ile	Met	Ala	Ala	Val	Met	Ser	Phe	Thr	Tyr	Ala	Thr	Ile	Gly		
				200					205					210		
ATC	GGT	CTA	GCC	ATC	GCA	ACC	GTC	GCA	GGT	GGG	AAA	GTG	GGT	AAG	731	10
Ile	Gly	Leu	Ala	Ile	Ala	Thr	Val	Ala	Gly	Gly	Lys	Val	Gly	Lys		
				215					220					225		
ACG	AGT	ATG	ACG	GGC	ACA	GCG	GTT	GGA	GTA	GAT	GTA	ACC	GCA	GCT	776	
Thr	Ser	Met	Thr	Gly	Thr	Ala	Val	Gly	Val	Asp	Val	Thr	Ala	Ala		
				230					235					240		15
CAA	AAG	ATA	TGG	AGA	TCG	TTT	CAA	GCG	GTT	GGG	GAC	ATA	GCG	TTC	821	
Gln	Lys	Ile	Trp	Arg	Ser	Phe	Gln	Ala	Val	Gly	Asp	Ile	Ala	Phe		
				245					250					255		
GCC	TAT	GCT	TAT	GCC	ACG	GTT	CTC	ATC	GAG	ATT	CAG	GAT	ACA	CTA	866	20
Ala	Tyr	Ala	Tyr	Ala	Thr	Val	Leu	Ile	Glu	Ile	Gln	Asp	Thr	Leu		
				260					265					270		
AGA	TCT	AGC	CCA	GCT	GAG	AAC	AAA	GCC	ATG	AAA	AGA	GCA	AGT	CTT	911	
Arg	Ser	Ser	Pro	Ala	Glu	Asn	Lys	Ala	Met	Lys	Arg	Ala	Ser	Leu		
				275					280					285		
GTG	GGA	GTA	TCA	ACC	ACC	ACT	TTT	TTC	TAC	ATC	TTA	TGT	GGA	TGC	956	25
Val	Gly	Val	Ser	Thr	Thr	Thr	Phe	Phe	Tyr	Ile	Leu	Cys	Gly	Cys		
				290					295					300		
ATC	GGC	TAT	GCT	GCA	TTT	GGA	AAC	AAT	GCC	CCT	GGA	GAT	TTC	CTC	1001	
Ile	Gly	Tyr	Ala	Ala	Phe	Gly	Asn	Asn	Ala	Pro	Gly	Asp	Phe	Leu		30
				305					310					315		
ACA	GAT	TTC	GGG	TTT	TTC	GAG	CCC	TTT	TGG	CTC	ATT	GAC	TTT	GCA	1046	
Thr	Asp	Phe	Gly	Phe	Phe	Glu	Pro	Phe	Trp	Leu	Ile	Asp	Phe	Ala		
				320					325					330		
AAC	GCT	TGC	ATC	GCT	GTC	CAC	CTT	ATT	GGT	GCC	TAT	CAG	GTG	TTC	1091	35
Asn	Ala	Cys	Ile	Ala	Val	His	Leu	Ile	Gly	Ala	Tyr	Gln	Val	Phe		
				335					340					345		
GCG	CAG	CCG	ATA	TTC	CAG	TTT	GTT	GAG	AAA	AAA	TGC	AAC	AGA	AAC	1136	
Ala	Gln	Pro	Ile	Phe	Gln	Phe	Val	Glu	Lys	Lys	Cys	Asn	Arg	Asn		
				350					355					360		
TAT	CCA	GAC	AAC	AAG	TTC	ATC	ACT	TCT	GAA	TAT	TCA	GTA	AAC	GTA	1181	40
Tyr	Pro	Asp	Asn	Lys	Phe	Ile	Thr	Ser	Glu	Tyr	Ser	Val	Asn	Val		
				365					370					375		
CCT	TTC	CTT	GGA	AAA	TTC	AAC	ATT	AGC	CTC	TTC	AGA	TTG	GTG	TGG	1226	
Pro	Phe	Leu	Gly	Lys	Phe	Asn	Ile	Ser	Leu	Phe	Arg	Leu	Val	Trp		45
				380					385					390		
AGG	ACA	GCT	TAT	GTG	GTT	ATA	ACC	ACT	GTT	GTA	GCT	ATG	ATA	TTC	1271	
Arg	Thr	Ala	Tyr	Val	Val	Ile	Thr	Thr	Val	Val	Ala	Met	Ile	Phe		
				395					400					405		
CCT	TTC	TTC	AAC	GCG	ATC	TTA	GGT	CTT	ATC	GGA	GCA	GCT	TCC	TTC	1316	50
Pro	Phe	Phe	Asn	Ala	Ile	Leu	Gly	Leu	Ile	Gly	Ala	Ala	Ser	Phe		
				410					415					420		
TGG	CCT	TTA	ACG	GTT	TAT	TTC	CCT	GTG	GAG	ATG	CAC	ATT	GCA	CAA	1361	
Trp	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr	Phe	Pro	Val	Glu	Met	His	Ile	Ala	Gln		55
				425					430					435		

ACC AAG ATT AAG AAG TAC TCT GCT AGA TGG ATT GCG CTG AAA ACG 1406
 Thr Lys Ile Lys Lys Tyr Ser Ala Arg Trp Ile Ala Leu Lys Thr
 440 445 450
 5 ATG TGC TAT GTT TGC TTG ATC GTC TCG CTC TTA GCT GCA GCC GGA 1451
 Met Cys Tyr Val Cys Leu Ile Val Ser Leu Leu Ala Ala Ala Gly
 455 460 465
 TCC ATC GCA GGA CTT ATA AGT AGT GTC AAA ACC TAC AAG CCC TTC 1496
 Ser Ile Ala Gly Leu Ile Ser Ser Val Lys Thr Tyr Lys Pro Phe
 470 475 480
 10 CGG ACT ATG CAT GAG TGAGTTTGAG ATCCTCAAGA GAGTCAAAAA TATATGTAGT 1551
 Arg Thr Met His Glu
 485
 AGTTTGGTCT TTCTGTAA CTATCTGGTG TCTAAATCCA ATGAGAATGC TTTATTGCTA 1611
 15 AAACCTCATG AATCTCTCTG TATCTACATC TTTCAATCTA ATACATATGA GCTCTTCCAA 1671
 AAAAAAAAAA AAAA 1685

Patentansprüche

1. DNA-Sequenzen, die die Kodierregion eines Aminosäuretransporters enthalten, dadurch gekennzeichnet, daß die in der Nukleotidabfolge enthaltene Information bei Integration in ein pflanzliches Genom die Bildung von Ribonukleinsäure erlaubt und über diese Ribonukleinsäure eine neue Aminosäuretransporter-Aktivität in Pflanzenzellen eingeführt werden kann oder eine endogene Aminosäuretransporter-Aktivität unterdrückt werden kann.
 2. Eine DNA-Sequenz gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie folgende Nukleotidabfolge (Seq-ID No 1) enthält:

30 CTTAAAACAT TTATTTTATC TTCTTCTTGT TCTCTCTTTC TCTTTCTCTC ATCACT 56
 ATG AAG AGT TTC AAC ACA GAA GGA CAC AAC CAC TCC ACG GCG GAA 101
 Met Lys Ser Phe Asn Thr Glu Gly His Asn His Ser Thr Ala Glu
 1 5 10 15
 35 TCC GGC GAT GCC TAC ACC GTG TCG GAC CCG ACA AAG AAC GTC GAT 146
 Ser Gly Asp Ala Tyr Thr Val Ser Asp Pro Thr Lys Asn Val Asp
 20 25 30
 GAA GAT GGT CGA GAG AAG CGT ACC GGG ACG TGG CTT ACG GCG AGT 191
 Glu Asp Gly Arg Glu Lys Arg Thr Gly Thr Trp Leu Thr Ala Ser
 35 40 45
 GCG CAT ATT ATC ACG GCG GTG ATA GGC TCC GGA GTG TTG TCT TTA 236
 Ala His Ile Ile Thr Ala Val Ile Gly Ser Gly Val Leu Ser Leu
 50 55 60
 GCA TGG GCT ATA GCT CAG CTT GGT TGG ATC GCA GGG ACA TCG ATC 281
 Ala Trp Ala Ile Ala Gln Leu Gly Trp Ile Ala Gly Thr Ser Ile
 45 50 55 60
 TTA CTC ATT TTC TCG TTC ATT ACT TAC TTC ACC TCC ACC ATG CTT 326
 Leu Leu Ile Phe Ser Phe Ile Thr Tyr Phe Thr Ser Thr Met Leu
 65 70 75 80
 GCC GAT TGC TAC CGT GCG CCG GAT CCC GTC ACC GGA AAA CGG AAT 371
 Ala Asp Cys Tyr Arg Ala Pro Asp Pro Val Thr Gly Lys Arg Asn
 85 90 95 100 105
 TAC ACT TAC ATG GAC GTT GTT CGA TCT TAC CTC GGT GGT AGG AAA 416
 Tyr Thr Tyr Met Asp Val Val Arg Ser Tyr Leu Gly Gly Arg Lys
 110 115 120
 55 GTG CAG CTC TGT GGA GTG GCA CAA TAT GGG AAT CTG ATT GGG GTC 461
 Val Gln Leu Cys Gly Val Ala Gln Tyr Gly Asn Leu Ile Gly Val
 125 130 135
 ACT GTT GGT TAC ACC ATC ACT GCT TCT ATT AGT TTG GTA GCG GTA 506
 Thr Val Gly Tyr Thr Ile Thr Ala Ser Ile Ser Leu Val Ala Val
 140 145 150
 60 GGG AAA TCG AAC TGC TTC CAC GAT AAA GGG CAC ACT GCG GAT TGT 551
 Gly Lys Ser Asn Cys Phe His Asp Lys Gly His Thr Ala Asp Cys
 155 160 165
 ACT ATA TCG AAT TAT CCG TAT ATG GCG GTT TTT GGT ATC ATT CAA 596

DE 42 22 315 A1

Thr	Ile	Ser	Asn	Tyr	Pro	Tyr	Met	Ala	Val	Phe	Gly	Ile	Ile	Gln	
				170					175					180	
GTT	ATT	CTT	AGC	CAG	ATC	CCA	AAT	TTC	CAC	AAG	CTC	TCT	TTT	CTT	641
Val	Ile	Leu	Ser	Gln	Ile	Pro	Asn	Phe	His	Lys	Leu	Ser	Phe	Leu	
				185					190					195	
TCC	ATT	ATG	GCC	GCA	GTC	ATG	TCC	TTT	ACT	TAT	GCA	ACT	ATT	GGA	686
Ser	Ile	Met	Ala	Ala	Val	Met	Ser	Phe	Thr	Tyr	Ala	Thr	Ile	Gly	
				200					205					210	
ATC	GGT	CTA	GCC	ATC	GCA	ACC	GTC	GCA	GGT	GGG	AAA	GTG	GGT	AAG	731
Ile	Gly	Leu	Ala	Ile	Ala	Thr	Val	Ala	Gly	Gly	Lys	Val	Gly	Lys	
				215					220					225	
ACG	AGT	ATG	ACG	GGC	ACA	GCG	GTT	GGA	GTA	GAT	GTA	ACC	GCA	GCT	776
Thr	Ser	Met	Thr	Gly	Thr	Ala	Val	Gly	Val	Asp	Val	Thr	Ala	Ala	
				230					235					240	
CAA	AAG	ATA	TGG	AGA	TCG	TTT	CAA	GCG	GTT	GGG	GAC	ATA	GCG	TTC	821
Gln	Lys	Ile	Trp	Arg	Ser	Phe	Gln	Ala	Val	Gly	Asp	Ile	Ala	Phe	
				245					250					255	
GCC	TAT	GCT	TAT	GCC	ACG	GTT	CTC	ATC	GAG	ATT	CAG	GAT	ACA	CTA	866
Ala	Tyr	Ala	Tyr	Ala	Thr	Val	Leu	Ile	Glu	Ile	Gln	Asp	Thr	Leu	
				260					265					270	
AGA	TCT	AGC	CCA	GCT	GAG	AAC	AAA	GCC	ATG	AAA	AGA	GCA	AGT	CTT	911
Arg	Ser	Ser	Pro	Ala	Glu	Asn	Lys	Ala	Met	Lys	Arg	Ala	Ser	Leu	
				275					280					285	
GTG	GGA	GTA	TCA	ACC	ACT	TTT	TTC	TAC	ATC	TTA	TGT	GGA	TGC		956
Val	Gly	Val	Ser	Thr	Thr	Thr	Phe	Phe	Tyr	Ile	Leu	Cys	Gly	Cys	
				290					295					300	
ATC	GGC	TAT	GCT	GCA	TTT	GGA	AAC	AAT	GCC	CCT	GGA	GAT	TTC	CTC	1001
Ile	Gly	Tyr	Ala	Ala	Phe	Gly	Asn	Asn	Ala	Pro	Gly	Asp	Phe	Leu	
				305					310					315	
ACA	GAT	TTC	GGG	TTT	TTC	GAG	CCC	TTT	TGG	CTC	ATT	GAC	TTT	GCA	1046
Thr	Asp	Phe	Gly	Phe	Phe	Glu	Pro	Phe	Trp	Leu	Ile	Asp	Phe	Ala	
				320					325					330	
AAC	GCT	TGC	ATC	GCT	GTC	CAC	CTT	ATT	GGT	GCC	TAT	CAG	GTG	TTC	1091
Asn	Ala	Cys	Ile	Ala	Val	His	Leu	Ile	Gly	Ala	Tyr	Gln	Val	Phe	
				335					340					345	
GCG	CAG	CCG	ATA	TTC	CAG	TTT	GTT	GAG	AAA	AAA	TGC	AAC	AGA	AAC	1136
Ala	Gln	Pro	Ile	Phe	Gln	Phe	Val	Glu	Lys	Lys	Cys	Asn	Arg	Asn	
				350					355					360	
TAT	CCA	GAC	AAC	AAG	TTC	ATC	ACT	TCT	GAA	TAT	TCA	GTA	AAC	GTA	1181
Tyr	Pro	Asp	Asn	Lys	Phe	Ile	Thr	Ser	Glu	Tyr	Ser	Val	Asn	Val	
				365					370					375	
CCT	TTC	CTT	GGA	AAA	TTC	AAC	ATT	AGC	CTC	TTC	AGA	TTG	GTG	TGG	1226
Pro	Phe	Leu	Gly	Lys	Phe	Asn	Ile	Ser	Leu	Phe	Arg	Leu	Val	Trp	
				380					385					390	
AGG	ACA	GCT	TAT	GTG	GTT	ATA	ACC	ACT	GTT	GTA	GCT	ATG	ATA	TTC	1271
Arg	Thr	Ala	Tyr	Val	Val	Ile	Thr	Thr	Val	Val	Ala	Met	Ile	Phe	
				395					400					405	
CCT	TTC	TTC	AAC	GCG	ATC	TTA	GGT	CTT	ATC	GGA	GCA	GCT	TCC	TTC	1316
Pro	Phe	Phe	Asn	Ala	Ile	Leu	Gly	Leu	Ile	Gly	Ala	Ala	Ser	Phe	
				410					415					420	
TGC	CCT	TTA	ACG	GTT	TAT	TTC	CCT	GTG	GAG	ATG	CAC	ATT	GCA	CAA	1361
Trp	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr	Phe	Pro	Val	Glu	Met	His	Ile	Ala	Gln	
				425					430					435	

ACC AAG ATT AAG AAG TAC TCT GCT AGA TGG ATT GCG CTG AAA ACG 1406
 Thr Lys Ile Lys Lys Tyr Ser Ala Arg Trp Ile Ala Leu Lys Thr
 440 445 450
 ATG TGC TAT GTT TGC TTG ATC GTC TCG CTC TTA GCT GCA GCC GGA 1451
 Met Cys Tyr Val Cys Leu Ile Val Ser Leu Leu Ala Ala Ala Gly
 455 460 465
 TCC ATC GCA GGA CTT ATA AGT AGT GTC AAA ACC TAC AAG CCC TTC 1496
 Ser Ile Ala Gly Leu Ile Ser Ser Val Lys Thr Tyr Lys Pro Phe
 470 475 480
 CGG ACT ATG CAT GAG TGAGTTTGAG ATCCTCAAGA GAGTCAAAAA TATATGTAGT 1551
 Arg Thr Met His Glu
 485
 AGTTTGGTCT TTCTGTAAA CTATCTGGTG TCTAAATCCA ATGAGAATGC TTTATTGCTA 1611
 AAACCTCATG AATCTCTCTG TATCTACATC TTTCAATCTA ATACATATGA GCTCTTCCAA 1671
 AAAAAAAAAA AAAA 1685

- 20 3. Ein Plasmid, dadurch gekennzeichnet, daß es DNA-Sequenzen gemäß den Ansprüchen 1—2 enthält.
 4. Plasmid pPPP1-20 (DSM 7129).
 5. Plasmid pBin PPP1-20 (DSM 7130).
 6. Verwendung der Plasmide gemäß den Ansprüchen 3 bis 5 oder Derivate oder Teile davon zur Transfor-
 mation pro- und eukaryontischer Zellen.
 25 7. Pflanzen, enthaltend DNA-Sequenzen gemäß den Ansprüchen 1 und 2.
 8. Bakterien, enthaltend DNA-Sequenzen gemäß den Ansprüchen 1 und 2.
 9. Verwendung der DNA-Sequenzen des Aminosäuretransporters gemäß den Ansprüchen 1 und 2 zur
 Herstellung von Plasmiden mit veränderter Spezifität des Transporters.
 10. Verwendung der DNA-Sequenzen des Aminosäuretransporters gemäß den Ansprüchen 1 und 2 zur
 30 Isolierung ähnlicher Sequenzen aus dem Genom der Pflanze.
 11. Verwendung der DNA-Sequenzen des Aminosäuretransporters gemäß den Ansprüchen 1 und 2 zur
 Expression einer translatierbaren mRNA, die die Synthese eines Aminosäuretransporters in pro- und
 eukaryontischen Zellen ermöglicht.
 12. Verwendung der DNA-Sequenzen des Oligosaccharid-Transporters gemäß den Ansprüchen 1 und 2 zur
 35 Expression einer nicht translatierbaren RNA, die die Synthese eines endogenen Aminosäuretransporters in
 pro- und eukaryontischen Zellen verhindert.
 13. Verwendung der DNA-Sequenzen des Aminosäuretransporters gemäß den Ansprüchen 1 und 2 in
 Kombination mit Steuerelementen für eine Expression in pro- und eukaryontischen Zellen.
 14. Hefestämme enthaltend DNA-Sequenzen gemäß den Ansprüchen 1 und 2.
 40 15. Verwendung von Hefestämmen gemäß Anspruch 14 zur Identifikation pflanzlicher Aminosäuretrans-
 porter.
 16. Verwendung der DNA-Sequenzen des Aminosäuretransporters gemäß den Ansprüchen 1 und 2 zur
 Herstellung von Pflanzen mit verändertem Aminosäure- und Stickstoffmetabolismus.
 17. Verwendung der DNA-Sequenzen des Aminosäuretransporters gemäß den Ansprüchen 1 und 2 zur
 45 Herstellung von Nutzpflanzen mit größerem Ertrag.

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

50

55

60

65

- Leerseite -

THIS PAGE BLANK (USPTO)

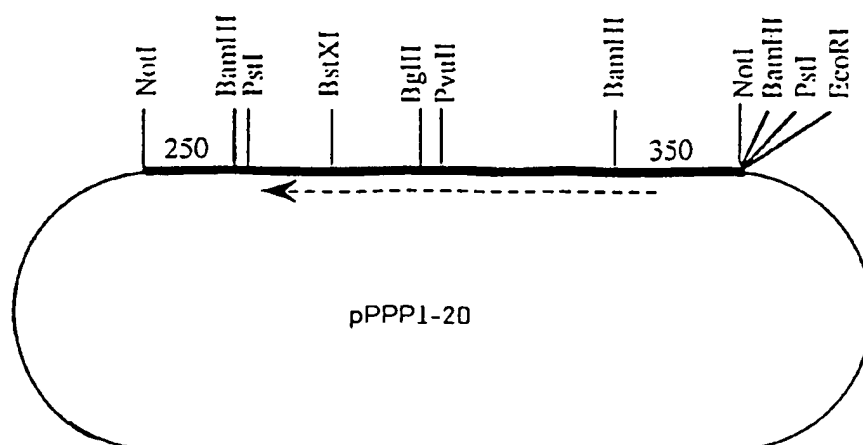


Fig. 1

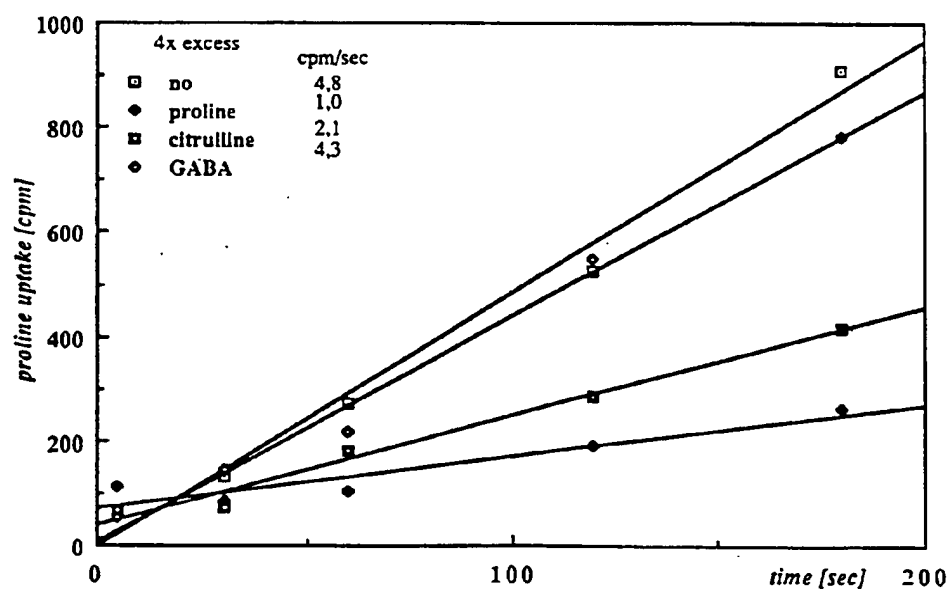


Fig. 2